

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie und Krankenhaushygiene
der Heinrich- Heine Universität Düsseldorf

Prof. Dr. med. K.D. Pfeffer

Infektion mit *Toxoplasma gondii*:
Risikofaktor für die Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen?

Dissertation

zur Erlangung des Grades eines Doktors der

Medizin

Der Medizinischen Fakultät der Heinrich Heine Universität

Düsseldorf

vorgelegt von

Bessime Bozkurt

2009

„ Als Inauguraldissertation gedruckt mit der Genehmigung der
Medizinischen Fakultät der Heinrich- Heine Universität Düsseldorf“

gez.: Universitätsprofessor Dr. med. Windolf

Dekan

Referent: Prof. Dr. med. W. Däubener

Koreferent: Priv.- Doz. Dr. rer. nat. R. Sorg

Meinem Vater Sükrü Bozkurt

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	7
1.1	Toxoplasma gondii.....	7
1.1.1	Erreger und Entwicklungszyklus	8
1.1.2	Klinisches Bild und Diagnose.....	11
1.1.3	Therapie und Prophylaxe	13
1.1.4	Immunologische Abwehrmechanismen bei einer Infektion mit Toxoplasmen	14
1.2	Schizophrenie.....	16
1.2.1	Symptomatik	16
1.2.2	Ätiopathogenese Schizophrenie.....	17
1.2.3	Therapie der Schizophrenie.....	19
1.3	Affektive Psychosen	20
1.3.1	Melancholische Depression	21
1.3.2	Manie.....	23
1.3.3	Ätiopathogenese	24
1.3.4	Therapie affektiver Psychosen.....	26
1.4	Schizoaffektive Psychosen	28
1.4.1	Ätiologie.....	28
1.4.2	Therapie schizoaffektiver Psychosen.....	28
1.5	Fragestellung	29
2	Material und Methoden	31
2.1	Studienpopulation.....	31
2.1.1	Patientengruppen / Probanden.....	31
2.1.2	Kontrollgruppe / Probanden.....	31
2.2	Biologische Materialien.....	32
2.2.1	Zell- Linien	32
2.2.2	Medienkomponenten und Zytonkine	32
2.2.3	Lösungen und Puffer	33
2.2.4	Enzyme und Kitsysteme.....	34
2.2.5	Radionukleotide	34
2.2.6	Antikörper	34

2.3	Sonstige Materialien.....	35
2.3.1	Laborgeräte.....	35
2.3.2	Verbrauchsmittel.....	35
2.3.3	Chemikalien.....	36
2.4	Methoden der Zellkultur	37
2.4.1	Kultivierung und Ernte der Mausfibroblasten L929	37
2.4.2	Kultivierung und Ernte der Toxoplasmen.....	37
2.4.3	Ficoll Hypaque Zentrifugation: Isolierung mononukleärer Zellen aus peripherem Blut.....	38
2.4.4	Fluoreszenzaktivierte Zell- Scanner Analyse zur Charakterisierung von Oberflächenantigenen und intrazellulärer Zytokine peripherer Blutlymphozyten	40
2.5	Proteinbiochemische Methoden.....	41
2.5.1	ELISA- Tests.....	41
2.5.2	Immunfluoreszenztest.....	42
2.6	Software.....	43
3	Ergebnisse.....	44
3.1	Serologie	44
3.2	T - Zellwachstum nach Stimulation mit PHA und TLA.....	46
3.3	Cytokin Sekretion nach Stimulation mit TLA.....	55
3.4	FACS- Analyse zur Charakterisierung von Oberflächen- Antigenen und intrazellulären Cytokinen peripherer Blutlymphozyten.....	59
4	Diskussion	72
4.1	Serologische Befunde.....	74
4.2	Zelluläre Immunantwort.....	76
4.2.1	T-Zellproliferation	76
4.2.2	Cytokinproduktion.....	77
4.2.3	Charakterisierung von Oberflächenantigenen und intrazellulärer Cytokine peripherer Blutlymphozyten im Fluoreszenzaktivierter Zellscanner (FACS) 79	79
5	Zusammenfassung	83
6	Literaturverzeichnis.....	84

7	Abkürzungsverzeichnis	95
8	Danksagung	96
9	Curriculum vitae.....	97

1 Einleitung

Die Ursache vieler schwerer psychiatrischer Erkrankungen, wie die der Schizophrenie und depressiver Erkrankungen, sind trotz intensiver Forschungsbemühungen bis heute nicht endgültig geklärt. Es wird von einer multifaktoriellen Genese ausgegangen in deren Zentrum eine genetische Vulnerabilität stehen soll [1], [2]. Epidemiologische Studien zeigten, dass auch Umweltfaktoren, wie z.B. perinatale Infektionen und Geburten in der kalten Jahreszeit, mit einem erhöhten Risiko an Schizophrenie zu erkranken einhergehen [3], [4], [5]. In den Focus solcher Überlegungen gerieten unter anderem Erreger wie *Toxoplasma (T.) gondii* [6], da Toxoplasmen in der Lage sind eine chronische Infektion mit jahrelanger Persistenz im ZNS hervorzurufen [7].



Abbildung 1: *T. gondii*

Zyste und Einzelparasiten aus dem Gehirn einer Maus.
Zystendurchmesser ca. 70µm (Seitz 1992).

1.1 Toxoplasma gondii

T. gondii ist ein weltweit vorkommender einzelliger Parasit, der ca. 25 % der Menschheit chronisch infiziert [8]. Die geringe Wirtsspezifität befähigt den Erreger zur Infektion eines breiten Spektrums warmblütiger Vertebraten (u.a. Katze, Mensch, Schaf, Schwein und Hund). Die Prävalenz ist altersabhängig und regional unterschiedlich. Die Morbidität ist allgemein gering. Beim

immunkompetenten Erwachsenen verläuft die Infektion in der Regel asymptomatisch. Bei immunkompromitierten Patienten (HIV-Infektion) sowie bei Infektion des Fetus kann es jedoch zu schwerwiegenden Komplikationen wie zerebraler und generalisierter Toxoplasmose sowie zur konnatalen Toxoplasmose kommen. Als häufigster Ansteckungsweg wird die Aufnahme zystenhaltigen Fleisches angesehen [9], [10]. Eine weitere Infektionsquelle stellen Katzen und andere Feliden dar, denen als Endwirten eine entscheidende Bedeutung im Entwicklungszyklus des Parasiten zukommt [11], [12]. Ihre Rolle bei der Übertragung der Toxoplasmen wird in der Literatur kontrovers beurteilt. Einige Autoren vertreten nach wie vor die Ansicht, dass der Kontakt zu Katzen eine der Hauptursachen für die Infektion mit *T. gondii* darstellt [13], [14]. Die Mehrzahl geht jedoch von einer geringeren Bedeutung der Katze als Infektionsquelle aus, da sich zwischen Gebieten mit hohem und niedrigem Katzenanteil keine wesentlichen Unterschiede in der Toxoplasmose Inzidenz feststellen ließen [15], [16], [17]. Ein weiterer Infektionsweg ist die diaplazentare Übertragung des Erregers auf den Fötus bei erstmalig infizierten Schwangeren. Die Inzidenz der konnatalen Toxoplasmose liegt in Deutschland zwischen 0,1 und 0,2 Prozent [18], [19], [20]. Zur Vorbeugung gegen die Auswirkungen pränataler Infektionen sind serologische Vorsorgeuntersuchungen bei Schwangeren wichtig.

1.1.1 Erreger und Entwicklungszyklus

Im Entwicklungszyklus tritt *T. gondii* in verschiedenen Stadien auf:

Endozoiten (Tachyzoiten) sind Proliferationsformen, die sich innerhalb einer parasitophoren Vakuole in kernhaltigen Zellen des Wirtes durch Endodyogenie schnell vermehren. Dabei entstehen innerhalb einer Mutterzelle zwei Tochterindividuen. Die von der Doppelmembran der parasitophoren Vakuole umgebenen Ansammlungen von Tachyzoiten werden auch als „Pseudozysten“

bezeichnet. Tachyzoiten sind sichelförmige Zellen, die am vorderen Pol einen Apikalkomplex enthalten. Mit Hilfe des Apikalkomplexes tritt der Parasit beim Eindringen in die Wirtszelle in Kontakt zur Wirtszellmembran. Dabei werden aus dem Apikalkomplex Inhaltsstoffe abgegeben, die offenbar beim Penetrationsvorgang eine Rolle spielen. Endozoiten sind an der Außenwelt sehr hilflos; nach peroraler Aufnahme überstehen sie die Magenpassage in der Regel nicht.

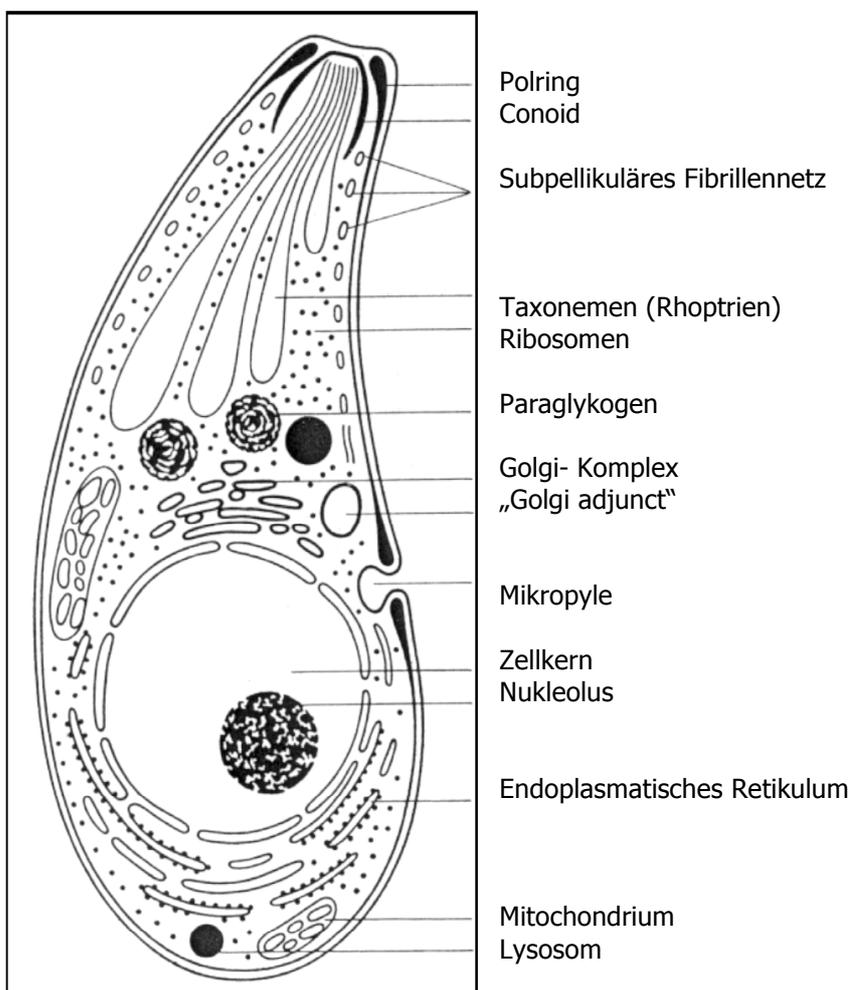


Abbildung 2: *Toxoplasma gondii*: Schematische Darstellung eines Tachyzoiten (Wildföhr 1975)

Zystozoiten (Bradyzoiten) sind durch langsame Vermehrung in Zysten gebildete Stadien. Die Zysten bilden sich intrazellulär in verschiedenen Geweben, sie haben eine relativ widerstandsfähige Wand, werden bis zu 150µm groß und können bis zu mehrere Tausend Zystozoiten enthalten. Im Wirt haben sie eine lange Lebensdauer. Menschen und Tiere können sich durch orale Aufnahme zystenhaltigen Fleisches infizieren. **Oozysten** sind rundliche, mit einer resistenten Hülle ausgestattete Dauerstadien, die als Endprodukt eines im Darmepithel von katzenartigen Tieren ablaufenden geschlechtlichen Zyklus entstehen, eine Zygote enthalten und mit dem Kot ausgeschieden werden. Innerhalb von 2-4 Tagen erfolgt die Sporulation, bei der 2 Sporozysten mit je 4 Sporozoiten entstehen. Erst die sporulierte Oozysten sind für Menschen und Tiere infektiös. Die **extraintestinale Phase** schließt sich an eine perorale Infektion mit Oozysten oder Zysten an und kommt bei Zwischenwirten und bei Endwirten vor. Vom Darm aus gelangen die Toxoplasmen, vorwiegend wohl eingeschlossen in Makrophagen, im Blut oder der Lymphe in verschiedene Organe und vermehren sich in kernhaltigen Wirtszellen, vorzugsweise im retikulohistiozytären System, in der Muskulatur und im ZNS. Durch wiederholte Endodyogenie entstehen in der sich erweiternden Wirtszelle bis zu 32 Tochterindividuen, bis die Zelle platzt [21]. Die dabei frei werdenden Endozoiten befallen benachbarte Zellen. Diese Vorfälle führen im befallenen Gewebe zu fokalen Nekrosen und entzündlichen Reaktionen. Im Rahmen einer Generalisation kann es auch zur Besiedlung der Plazenta und etwa 3-4 Wochen später auch zur Infektion des Fötus kommen. Relativ früh im Verlauf der Infektion entstehen Zysten, die in ihrer Umgebung keine entzündlichen Reaktionen hervorrufen. Solche Zysten (=Gewebezysten) findet man vor allem im ZNS, in der Skelett- und Herzmuskulatur, aber auch in der Retina, der Uteruswand und in anderen Organen. Sie können jahrelang am Leben bleiben, ohne den Wirt merklich zu schädigen [11].

1.1.2 Klinisches Bild und Diagnose

Es gibt zwei Erscheinungsformen der Toxoplasmose:

Die **postnatale Toxoplasmose** verläuft beim immunkompetenten Menschen meist harmlos oder gänzlich unbemerkt. Es handelt sich um eine chronisch latente Infektion ohne Symptome. Bei 1% der Infizierten kommt eine symptomatische Toxoplasmose mit Schwellung von Lymphknoten (häufig nuchal und zervikal), Fieber, Kopf- und Muskelschmerzen vor [12], [13], [22], [23], [24]. Die Diagnose ist beispielsweise über die Bestimmung der Antikörper im Blut möglich. Bei immunsupprimierten Patienten (z.B. nach Organtransplantation) und bei AIDS (ca. 30% aller AIDS Kranken, [25]) kann eine chronische Infektion reaktiviert werden [26], [27], [28]. In diesem Fall kann eine Toxoplasmenencephalitis entstehen. Dieses Krankheitsbild kann einen schweren Verlauf, mit fokalneurologischen Defiziten (Hemiparesen, Sensibilitätsstörungen, Aphasie) und Wesensänderungen sowie evtl.

septischer Streuung in Herz, Leber, und Milz, nehmen [22], [29], [30]. Da bei AIDS-Patienten eine Störung der humoralen Antikörperbildung und der zellulären Immunität vorliegt kommt neben der serologischen Diagnostik bei entsprechender Klinik auch der Bildgebung eine besondere Bedeutung zu [31], [32]. Auch der direkte Erregernachweis im Tierversuch eignet sich zur Diagnostik [31], [33].



Abbildung 2: Toxoplasmenenzephalitis bei einem Patienten mit AIDS. Das kraniale CT zeigt nach KM-Gabe eine ringförmige Läsion im Bereich des Thalamus mit peripherem Ödem und Ventrikelkompression (Armstrong 1999).

Bei der **konnatalen Toxoplasmose** unterscheidet man eine relativ seltene, frühe Fetusinfektion mit einem schweren Verlauf von einer häufigeren, späten Fetusinfektion. Bei der frühen Form kommt es u.a. zu Hepatosplenomegalie, Ikterus, Myokarditis und Aborten sowie zur Enzephalitis mit der Trias Hydrozephalus, Chorioretinitis und intrazerebralen Verkalkungen [13]. Bei der späten Form beobachtet man einen leichteren Krankheitsverlauf wobei es zu späteren postenzephalitischen Schäden (Intelligenzdefekten) kommen kann. Zur Infektion des Feten kann es nur bei einer Primärinfektion der Mutter während der Schwangerschaft kommen. In Deutschland rechnet man mit 0,7% Erstinfektion in der Schwangerschaft. Man schätzt, dass pro Jahr etwa 300 Kinder schwere und 1400 Kinder leichtere Spätschäden entwickeln. Nach einer Inkubationszeit von Tagen bis Wochen kann die Diagnose anhand eines serologischen parasitenspezifischen Antikörpernachweises (KBR, Sabin-Feldmann-Test, IFT, ELISA) gestellt werden [34]. Der Nachweis von IgM-Antikörpern gelingt oft schon nach einer Woche und zeigt die frische Infektion an. Sie persistieren im Normalfall mindestens ein Jahr, oft sogar einige Jahre [13], [35], [36], [37], [38]. IgG- Antikörper treten etwas später auf und persistieren über viele Jahre [37], [39], [13]. Bei immunsupprimierten Patienten sind serologische Verfahren meist nicht aussagekräftig, da IgM- Antikörper sowie ein signifikanter IgG Titeranstieg oft fehlen. Außerdem kann man den Erreger im Liquor oder Blut nachweisen. Bei Verdacht auf eine Hirntoxoplasmose sollte ein CT bzw. MRT erfolgen. Hier kann man die relativ kleinen ring- oder fleckförmigen Verkalkungsstrukturen erkennen. Sie sind oft multifokal und typischerweise periventrikulär sowie kortikal lokalisiert [29], [40]. In der Pränataldiagnostik bieten sich Ultraschallkontrollen (granulomatöse Veränderungen) sowie der Nachweis von Toxoplasmen- DNA aus Fruchtwasser und fetalem Blut (nach der 20. Schwangerschaftswoche) an. Ein weiteres wichtiges Testverfahren in der Schwangerschaft ist der Aviditätstest. Er kann zwischen akuter und chronischer Infektion unterscheiden. Die Avidität ist ein

Maß für die Bindungsstärke zwischen Antikörper und Antigen. Im akuten Stadium einer Infektion zeigen die IgG- Antikörper eine schwächere Bindung zum Antigen als in der chronischen Phase [41], [42].

1.1.3 Therapie und Prophylaxe

Die Therapie erfolgt bei der Toxoplasmose mit klinischen Symptomen, bei immunsupprimierten mit akuter Toxoplasmose sowie bei Erstinfektion während der Schwangerschaft und kongenitaler Toxoplasmose. Die Behandlung mit Pyrimethamin, Sulfadiazin und Folsäure gilt trotz ihrer hohen Nebenwirkungsrate nach wie vor als wirkungsvollste Therapie einer Toxoplasmose. Pyrimethamin und Sulfadiazin sind Folsäureantagonisten, die sich in ihrer Wirkung ergänzen. Pyrimethamin hemmt die Dehydrofolatreduktase, Sulfadiazin die Dehydrofolatsynthetase [43]. Der daraus resultierende Folsäuremangel kann durch die präventive Gabe von Folsäure ausgeglichen werden. Die direkte Folsäure Substitution ist therapeutisch nicht sinnvoll, da gleichzeitig verabreichtes Pyrimethamin die Umwandlung in Folsäure verhindert [43]. Das Mittel der ersten Wahl in Deutschland ist Pyrimethamin (50-100mg/d p.o.) + Sulfadiazin (3-4 x 2g/d p.o.) + Folsäure (15-30mg/d p.o.) für 4-6 Wochen oder statt Sulfadiazin Clindamycin (4 x 600-900mg/d p.o.). Vor der 20. Schwangerschaftswoche ist diese Therapie kontraindiziert; hier empfiehlt sich stattdessen eine Monotherapie mit Spiramycin. Die Therapie ist länderspezifisch unterschiedlich, in Ländern wie den USA und Frankreich gibt es beispielsweise andere Empfehlungen. Allerdings gibt es keine Daten, die belegen, dass die Therapie effektiv ist [44]. Neugeborene werden schon bei Verdacht auf eine intrauterin erworbene Infektion behandelt. Einige Autoren geben in diesem Fall während der ersten 2 Lebenswochen Spiramycin (100 mg/kg/d) und ab der 3. Woche Sulfadoxin (20 mg/kg/Woche) und Pyrimethamin (1 mg/kg/Woche), bis die Diagnose gesichert ist [45]. Andere behandeln von Geburt an bis zur festen Diagnose mit der

Standardtherapie oder mit Spiramycin [46], [47]. Eine Prophylaxe ist für Immunsupprimierte, AIDS-Patienten und seronegative Schwangere indiziert. Diese besteht in peinlichster Hygiene bei Katzenkontakt und Meidung von Genuss rohen Fleisches. Auch über Katzenkot verunreinigte Erde bei Gartenarbeit und in der Landwirtschaft sind perorale Schmutz- und Schmierinfektionen möglich [12], [48]. Während der Arbeit auf dem Feld oder im Garten sollten daher Handschuhe getragen werden. Bei AIDS-Patienten sollte eine Primärprophylaxe mit Cotrimoxazol (960mg/d) (bei CD4-Zellzahl <150/µl) erfolgen um eine Toxoplasmose zu vermeiden. Eine Sekundärprophylaxe (nach erfolgreich behandelter Infektion) ist bei Immunsupprimierten immer indiziert und sollte mit einer Kombination aus Pyrimethamin und Sulfadiazin mit täglich 25-50% der Akutdosis erfolgen [25], [49], [50], [51].

1.1.4 Immunologische Abwehrmechanismen bei einer Infektion mit Toxoplasmen

Parasitäre Infektionen stimulieren sowohl die humorale als auch die zelluläre Immunantwort des infizierten Organismus. Im lebenden Organismus kooperieren die einzelnen Komponenten des Immunsystems eng miteinander [52], jedoch wird der zellvermittelten Immunabwehr die größere Bedeutung beigemessen [53]. In der akuten Phase wird ein breites Spektrum an spezifischen Antikörpern kurze Zeit nach der Infektion gebildet. Diese unterdrücken vor allem lokal die Vermehrung und Ausbreitung der Parasiten [54]. Die Produktion der Antikörper führt zur Auslösung des klassischen Weges der Komplement-Aktivierung, der in einer effektiven Abtötung extrazellulärer Toxoplasmen resultiert [55]. Dendritische Zellen (DC) und Makrophagen sind wichtige Bestandteile der zellulären Immunität eines Organismus. Die Phagozytose der Erreger durch z.B. DC, Makrophagen und Granulozyten ist ein wichtiger Mechanismus der zellulären Abwehr bei akuten Toxoplasmosen. Sie

befinden sich hauptsächlich im Lymphgewebe und Gewebe und zählen so zu den ersten Zellen, die bei Invasion eines Wirtes mit *T. gondii* in Kontakt treten. Allerdings sind Toxoplasmen generell in der Lage, sich auch in Makrophagen zu vermehren [22], [56]. In Gegenwart *T. gondii*-spezifischer Antikörper und Komplement [57] oder vorheriger Aktivierung mit Cytokinen werden sie jedoch verstärkt bekämpft [58]. Ruhende Makrophagen können durch Lymphokine, Hormone, Entzündungsmediatoren sowie durch verschiedene exogene Substanzen aktiviert werden [56]. Die wichtigste Rolle spielt dabei das IFN- γ , dessen Hauptquelle T- Zellen und Natürliche Killerzellen sind [59]. Die Aktivierung der T- Zellen erfolgt durch DC, welche als Antigen präsentierende Zellen (APC) gelten, die für eine primäre Immunantwort eines Organismus verantwortlich sind [60]. Am Entzündungsort rekrutieren DC durch die Produktion von Chemokinen und inflammatorischen Zytokinen weitere Leukozyten an den Entzündungsort [61]. Lebende Tachyzoiten des Parasiten führen bei unreifen DC zu einer Heraufregulation der Expression der costimulatorischen (CD80, CD86, CD40) und MHC- Klasse II Moleküle auf den DC [62].

Nach Differenzierung der T-Zelle in eine Typ 1 Effektorzelle setzen diese neben IFN- γ auch den Tumor- Nekrose- Faktor- α (TNF- α) frei. TNF- α wiederum induziert nicht nur die IFN- γ Produktion von NK- Zellen, sondern wirkt darüber hinaus synergistisch auf IFN- γ - induzierte Effektormechanismen, wie die NO- undIDO- Synthese von Makrophagen [63]. Extrazelluläre Toxoplasmen können durch aktivierte CD4+- und CD8+- T- Zellen abgetötet werden [64], bzw. cytotoxische T- Zellen können eine MHC-restringierte Lyse infizierter Zellen einleiten, die zur Freisetzung der Parasiten führt. Daraufhin sind diese dann für andere Abwehrmechanismen zugänglich [65], [66].

1.2 Schizophrenie

Schizophrenien gehören zu den häufigsten und schwersten Krankheitsbildern in der Psychiatrie überhaupt. Sie stellen vermutlich keine einheitliche, sondern eine heterogene Gruppe von Psychosen dar. Dabei handelt sich um eine Psychose mit Verlust des Strukturzusammenhangs der Persönlichkeit und Spaltung von Denken, Affekt und Erleben [67]. Die Prävalenz der schizophrenen Psychosen liegt bei 0,5 bis 1%, die jährliche Inzidenzrate bei 0,05%. Die Wahrscheinlichkeit im Laufe des Lebens an einer Schizophrenie zu erkranken, beträgt für die Durchschnittsbevölkerung etwa 1% [68]. Männer und Frauen sind etwa gleich häufig betroffen. Die Prävalenzzahlen sind in verschiedenen Ländern mit unterschiedlichem soziokulturellem Hintergrund etwa gleich [69].

1.2.1 Symptomatik

Seit über 100 Jahren werden Versuche unternommen, Psychosen aus dem schizophrenen Formenkreis, die heute mit der Diagnose F 20.0-6 nach ICD 10 [70] zusammengefasst werden, von anderen psychischen Krankheiten abzugrenzen. Kraepelin, der 1896 den Begriff „dementia praecox“ prägte [71], [72], ging davon aus, dass dieser Erkrankung ein degenerativer hirnorganischer Prozess zugrunde liegt, der schließlich zur Demenz führt [73]. Diese Ansicht wurde jedoch 1911 von Bleuler [74] widerlegt: Bleuler führte den Begriff der Schizophrenie ein und verstand darunter die Spaltung der verschiedensten psychischen Funktionen [73]. Nach heutiger Auffassung und gemäß ICD-10 sind für die Diagnose „Schizophrenie“ mindestens ein oder mehrere Symptome erforderlich: und zwar mindestens ein eindeutiges Symptom aus den in Tabelle 1 genannten Gruppen 1-4 oder mindestens 2 Symptome der Gruppen 5-8. Diese Symptome müssen fast ständig während eines Monats vorhanden sein [75].

Symptome zur Diagnosesicherung der Schizophrenie nach
AWMFL Leitlinien:
Deutsche Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und
Nervenheilkunde
(2005)

Eindeutige Symptome:

- Gedankenlautwerden, Gedankeneingebung, Gedankenentzug, Gedankenausbreitung
- Kontrollwahn, Beeinflussungswahn, Gefühl des Gemachten bzgl. Körperbewegung,
- Gedanken, Tätigkeiten oder Empfindungen, Wahnwahrnehmungen
- Kommentierte oder dialogische Stimmen
- völlig unrealistischer Wahn

Nichteindeutige Symptome:

- Anhaltende Halluzination jeder Sinnesmodalität
- Zerfahrenheit durch Gedankenabreißen, Einschleichen in den Gedankenfluss oder Neologismen
- Katatone Symptome wie Erregung, Haltungsstereotypien, Negativismus oder Stupor
- Negativsymptome wie: Apathie, Sprachverarmung, verflachte oder inadäquate Affekte

1.2.2 Ätiopathogenese Schizophrenie

Bei der Schizophrenie handelt es sich um ein Krankheitsbild mit multifaktorieller Genese, d.h. es müssen neurobiologische, psychologische und soziale Teilfaktoren berücksichtigt werden [76]. Eine genetische Komponente (polygener Erbgang) ist durch Familien-, Adoptionsstudien- und Zwillingsstudien belegt. Das Krankheitsrisiko ist um 10-15 % erhöht, wenn nur ein Familienmitglied an Schizophrenie leidet [77]. Sind beide Elternteile von der Krankheit betroffen, liegt das Risiko schon bei etwa 50 % [78]. Für die familiäre Häufung der Schizophrenie sind mit hoher Wahrscheinlichkeit mehrere untereinander interagierende Genkonstellationen verantwortlich, von denen jede nur einen kleinen Teil zum Erkrankungsrisiko beiträgt. Bisher konnten die Chromosomenabschnitte 5q, 6p, 8p, 10p, 13q, 18p und 22q als Kandidatenregionen für schizophrene Psychosen nachgewiesen werden. Die Identifikation erster risikomodulierender Gene (z.B. für Neuregulin und Dysbindin) ist gelungen [79]. Nicht-genetisch vermittelte Faktoren wie Schwangerschafts- und Geburtskomplikationen erhöhen das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, um ca. 1-2 %. Weitere bestätigte Umweltfaktoren

sind Drogenkonsum, Ernährungsdefizite, prä- und perinatale Virusinfekte [78]. Solche früh erworbenen Dispositionen sind meist nicht allein für den Ausbruch der Krankheit verantwortlich, sondern andere Faktoren müssen hinzutreten. Sog. „High-risk-Studien“ an Kindern mit einem schizophrenen Elternteil zeigen, dass bereits in frühester Kindheit das soziokommunikative und motorische Verhalten späterer Schizophrener auffällig gestört ist. Dies trägt zur Entwicklung einer gestörten prämorbidem Persönlichkeit mit häufig abnormem Interaktionsstil bei. Ein höheres Rückfallrisiko wird Schizophrenen aus Familien mit „high expresses emotions“, d. h. emotionalem Überengagement mit erhöhtem Kritikverhalten zugeschrieben [76]. Das Risiko, an Schizophrenie zu erkranken, kann durch weitere Faktoren, die in der Kindheit auftreten, wie Verlust eines Elternteiles, körperliche Misshandlung und sexueller Missbrauch erhöht werden [77]. Aus biochemischer Sicht wird als wichtigstes Korrelat akuter schizophrener Psychosen die Überaktivität dopaminerger Strukturen diskutiert [80]. Die Dopamin- Hypothese beruht auf der Beobachtung, dass die therapeutisch bei der Schizophrenie verwendeten Neuroleptika zentrale Dopamin- D2-Rezeptoren blockieren. Zudem können dopaminerge Substanzen wie z.B. Amphetamin (bewirkt eine Dopaminfreisetzung) eine akute Psychose induzieren, die der schizophrenen Symptomatik im Hinblick auf einzelne Symptome ähnelt [81]. Dem serotonergen System wird ebenfalls eine entscheidende Rolle bei der Manifestation zugesprochen. Dies stützt sich vor allem auf die Beobachtung, dass unter der Einnahme von strukturähnlichen psychoaktiven Substanzen wie Lysergsäurediethylamid (LSD) regelhaft psychotische Symptome hervorgerufen werden. Die Glutamat- Hypothese der Schizophrenie geht davon aus, dass schizophrene Störungen durch eine Unterfunktion des glutamatergen kortikostriatalen und kortikomesolimbischen Systems hervorgerufen werden. Auch Veränderungen im GABA- Stoffwechsel und im Acetylcholin- System sollen in der Ätiopathogenese der Schizophrenie eine Rolle spielen [77]. Als weitere Ursachen der Schizophrenie werden hirnstrukturelle Veränderungen diskutiert. Hier liegt vermutlich als morphologische Grundlage eine Hirnentwicklungsstörung vor, die funktionell mit

einer reduzierten Informationsverarbeitungskapazität einhergeht. Zur Erfassung der volumetrischen Veränderungen bei schizophrenen Patienten wurde eine Vielzahl von Studien durchgeführt. Bei einem Teil der Studien zeigte sich eine Abnahme des Gesamtvolumens des Gehirns, wobei die graue Substanz im Temporallappen am stärksten betroffen war. In den meisten Studien konnte eine Ventrikelerweiterung mit Schwerpunkt im Bereich der Temporalhörner und der Seitenventrikel gefunden werden [77].

1.2.3 Therapie der Schizophrenie

Die Therapie der Schizophrenie stützt sich auf drei Säulen: Psychopharmakologie,

Psychotherapie und Soziotherapie. In der Akutbehandlung steht die Remission oder Suppression der Positivsymptomatik und die Verhütung der Fremd- oder Selbstgefährdung im Vordergrund [76]. Bei allen Subtypen ist in dieser Phase, meist unter stationären Bedingungen, der Einsatz von konventionellen und atypischen Neuroleptika indiziert, die nach 4- bis 6-wöchiger Behandlung in 60-70 % der Fälle zu einer deutlichen Symptomreduktion führen [75]. Überwiegt die Negativsymptomatik, sind atypische Neuroleptika zu bevorzugen. Atypische Neuroleptika sind durch gute antipsychotische Effekte bei nur geringen extrapyramidalen Nebenwirkungen charakterisiert. Die rechtzeitige Behandlung einer Erstmanifestation hat einen entscheidenden Einfluss auf die Langzeitprognose und kann einer Chronifizierung entgegenwirken. Auch in der Langzeitbehandlung, deren Therapieziele vor allem Rezidivprophylaxe oder anhaltende Symptomsuppression sind, stellen Neuroleptika die Basistherapie dar. Nach den AWMF-Leitlinien der Deutschen Gesellschaft für Psychiatrie, Psychotherapie und Nervenheilkunde (2007) sind die Medikamente mindestens 12 Monate lang nach einer Erstmanifestation zu geben. Wenn zwei oder mehr Rezidive aufgetreten sind, sollten Neuroleptika mindestens zwei oder fünf Jahre

lang eingenommen werden, ggf. auch ein Leben lang. Die zweite Säule der Behandlungsstrategien umfasst Psychotherapieverfahren mit Einzel- und Gruppenbehandlungen. Der therapeutische Schwerpunkt liegt auf Information (z.B. über Krankheitsmodelle), Edukation (z.B. über Rückfallerkennung und Behandlungserfordernisse), Training (z.B. kognitiver und sozialer Fertigkeiten) und Beratung [75]. Aufdeckende Therapieverfahren, wie analytische Psychotherapie und Gestalttherapie, können zur Symptomprovokation führen und sollten nur in speziellen Einzelfällen angewandt werden. In die Therapie sollte auch das familiäre Umfeld mit einbezogen werden [75]. Soziotherapeutische Maßnahmen stellen die dritte Säule in der Behandlung von schizophrenen Patienten dar. Wegen der Neigung von Schizophreniepatienten zu

Hospitalisierungsschäden bei reizarmer Umgebung und wegen der Gefahr der Entwicklung chronischer Negativsymptomatik sind soziotherapeutische Maßnahmen besonders wichtig. Damit sollen vorhandene soziale Fähigkeiten des Erkrankten gefördert und die Entstehung bzw. Verstärkung sozialer Defizite verhindert werden. Neben der Arbeits- und Beschäftigungstherapie umfasst die Soziotherapie vor allem auch die Arbeit an Milieufaktoren und die Strukturierung des Tagesablaufes [80].

1.3 Affektive Psychosen

Affektive Psychosen sind seelische Erkrankungen, die hauptsächlich mit Störungen von Antrieb, Stimmung und Gefühl einhergehen und sich in polar entgegengesetzten Formen äußern können, als Depressionen vom melancholischen Typ und / oder Manien [71]. Sie verlaufen in Schüben (Episoden), die in der Regel remittieren ohne wesentliche Persönlichkeitsveränderungen zu hinterlassen. Wenn beim gleichen Kranken

melancholisch- depressive und manische Phasen auftreten, spricht man von der bipolaren Form. Die Wahrscheinlichkeit, einmal in seinem Leben an einer Depression zu erkranken, liegt für Männer bei 12-16% und für Frauen bei 20-26%. Verschiedenen Punktprävalenzstudien zufolge sind in Deutschland aktuell 2-3% der Männer und 4-7% der Frauen erkrankt [82]. Ergebnisse zur Lebenszeitprävalenz schwanken teilweise erheblich zwischen 4% und 20%, wie die Übersicht des „*International Consortium of Psychiatric Epidemiology*“ zeigt [83]. So kommen z.B. Heun und Maier [84] zu einer Lebenszeitprävalenz von 7,7%, andere Autoren zu niedrigeren Werten von 4,4% [83], [85]. Heun und Meier geben in ihrer Übersicht folgende Prävalenzwerte für Deutschland an: 11,5% für die Lebenszeit, 5,2% für ein Jahr und 1,3% für einen Monat. Derzeit leiden ca. vier Millionen Menschen in Deutschland an depressiven Symptomen [86]. Das mittlere Alter für den Krankheitsbeginn liegt in den meisten Ländern bei 20-25 Jahren [83], für die USA ermittelte z.B. Weissman 27 Jahre [85]. Andere Autoren geben als durchschnittliches Erkrankungsalter für eine Erstmanifestation den Zeitraum zwischen 30 und 40 Jahren an [87]. Frauen scheinen etwas häufiger von der Depression betroffen zu sein als Männer [85], [87]. Das Verhältnis liegt in etwa bei zwei zu eins, kann aber je nach Land der Erhebung zwischen 1,2 und 2,5 schwanken [83], [87].

1.3.1 Melancholische Depression

Das klinische Bild der Depression kann vielgestaltig sein. Als Leitsymptome gelten depressive Verstimmung, Hemmung von Antrieb und Denken sowie Schlafstörungen. Das Ausmaß der Depressivität kann von leicht gedrückter Stimmung bis zum schwermütigen, scheinbar auswegslosen, versteinerten Nichts- mehr- fühlen- Können („Gefühl der Gefühllosigkeit“) reichen. Nichtfühlen können und Nichttraurigsein können, sind diagnostisch wichtige Merkmale, sie gehören zum Kern des melancholisch-depressiven Erlebens [87]. Der Antrieb ist typischerweise gehemmt, die Kranken können sich zu nichts

aufraffen, sind interesse- und initiativlos und können sich nur schwer oder gar nicht entscheiden. Häufig klagen sie über Angst und quälende innere Unruhe und fühlen sich hilfs- und hoffnungslos. Die Hemmung von Antrieb und Psychomotorik kann sich bis zum depressiven Stupor steigern, bei dem die Kranken teilnahmslos und fast bewegungslos verharren. Das Denken ist einerseits gehemmt (Einfallsarmut, Konzentrationsstörungen), andererseits durch häufiges Grübeln geprägt. Ein praktisch obligates Symptom der Depression sind Schlafstörungen. Häufig finden sich vegetative Symptome wie Appetitlosigkeit, Obstipation und Libidomangel. Die Leibnähe der Depression kann sich in leiblichen Missempfindungen und Befindlichkeitsstörungen (Vitalstörungen) wie Druck- und Schweregefühl im Brust- und Bauchraum bzw. der Extremitäten sowie Schmerzempfindungen äußern. Viele Patienten empfinden eine leibliche Störung mit verminderter Vitalität im Sinne von Erschöpftheit und Energielosigkeit. Diese Symptome finden sich vor allem bei endogenen Depressionen (somatisches Syndrom). Es besteht ein ausgeprägtes Suizidrisiko. 15% der Patienten mit schweren depressiven Störungen begehen Suizid, 20 bis 60% weisen Suizidversuche in ihrer Krankheitsgeschichte auf, 40 bis 80% leiden während einer Depression an Suizidideen [89], [90], [91], [92], [93], [94]. Allgemein liegt die Mortalitätsrate bei affektiven Erkrankungen um 42-150% höher als in der Normalbevölkerung [90]. Ein Teil der Patienten kann aufgrund des äußeren Erscheinungsbildes mit ernstem Gesichtsausdruck, erstarrter Mimik und Gestik, gesenktem Blick und leiser zögernder Stimme verhältnismäßig leicht erkannt werden. In anderen Fällen muss der Arzt die Symptomatik gezielt explorieren, da der Patient im Rahmen seiner psychomotorischen Hemmung oder aus Scheu keine psychische Symptome, sondern evtl. nur körperliche Beschwerden angibt. Die Symptome der Depression unterliegen häufig Tagesschwankungen. Oft sind sie frühmorgens und vormittags am stärksten ausgeprägt (sog. Morgentief), gegen Nachmittag oder Abend tritt eine gewisse Aufhellung ein. Diese sog. typische Tagesschwankung ist eindrucksvoll, aber weder obligatorisch noch spezifisch für die melancholische Depression. Ausgeprägte melancholische Depressionen sind

kaum zu verkennen. Jedoch können die häufigeren mittelgradigen und leichteren Formen diagnostische Schwierigkeiten bereiten. Diagnostisch wichtiges Merkmal ist, dass insbesondere der Antrieb und nicht nur die Stimmung gestört ist. Abgesehen von der Symptomatik orientiert sich die Diagnose am Verlauf. Beweisend sind frühere Episoden melancholisch-depressiver oder manischer Art. Charakteristisch ist der plötzliche Beginn. Die Erkennung der Suizidgefährdung gehört zu den wichtigsten diagnostischen Aufgaben. Die meisten dieser Patienten sind während langer Zeiten ihrer Phasen zumindest latent suizidal. Durch eine sichere Führung und feste Bindung des Kranken können Suizidimpulse verhindert werden. Nicht alle können auf diese Weise sicher genug vor dem Suizid geschützt werden.

1.3.2 Manie

Die Manie ist durch gehobene Stimmung, gesteigerten Antrieb und beschleunigtes Denken (Ideenflucht) gekennzeichnet. Die betroffenen leiden an einem zuviel an Gefühl, Antrieb und Impuls. Sie wirken fröhlich, witzig, ausgelassen und ansteckend oder aber gereizt, anspruchsvoll, streitsüchtig und aggressiv. Die Antriebssteigerung äußert sich in erhöhter Aktivität, starkem Bewegungsdrang und unermüdlicher Betriebsamkeit. Hierdurch wird der Manische für seine Umgebung schwer erträglich. Diese Enthemmung kann sich auch in einem Verlust des Schamgefühls, im Erzählen derber Witze und sexueller Aufdringlichkeit äußern. Schwere Erregungszustände sind nicht selten. Die Ideenflucht ist die typische Denkstörung des Manischen. Der Kranke bringt immer wieder neue Einfälle, die flüchtig und unbeständig sind. Oft sind sie nur durch lockere Wort- und Klangassoziationen verknüpft. Er greift auf was um ihn herum geschieht, springt von einem Thema zum anderen und ist außer Stande, einen etwas längeren Gedankengang zu Ende zu führen. Die Denkfähigkeit und das Gedächtnis bleiben erhalten, das Bewusstsein ist klar. Die Inhalte des ideenflüchtigen Denkens hängen mit der gesteigerten Betriebsamkeit und

Selbstüberschätzung des Patienten eng zusammen. Er hält sich für hochintelligent, gibt vor er könne alle Probleme lösen, redet von revolutionären Erfindungen, weltanschaulichen und politischen Erneuerungen. Da die Patienten in der Regel keine Einsicht in den krankhaften Charakter ihres Zustandes haben, neigen sie dazu, ihre Größenideen in Taten umzusetzen, z.B. viel einzukaufen, Bestellungen aufzugeben und Schulden zu machen. Mit Abklingen der manischen Aktivität stellt sich die Krankheitseinsicht erst allmählich wieder ein. Die Symptome sind nicht immer so stark ausgeprägt. Leichte Manien (Hypomanien) sind häufig. Diagnostisch leitend sind bei leichter Manie Rededrang, unkritischer Optimismus und Enthemmung.

1.3.3 Ätiopathogenese

In den Familien affektpsychotischer Patienten finden sich mehr gleichartig erkrankte Verwandte als in der Durchschnittsbevölkerung [96]. Die Erkrankungs Wahrscheinlichkeit ist für Verwandte 1. Grades von unipolar-affektpsychotische Patienten sogar 10mal größer als in der Allgemeinbevölkerung. Bei zwei bipolar kranken Eltern erkranken bis zu 50% der Kinder. Zwillingsuntersuchungen ergaben für unipolare melancholische Depressionen 50% Konkordanz bei eineiigen gegenüber 20% bei zweieiigen Zwillingen, für die bipolare Form wurden 80% gegenüber 20% ermittelt [97]. Diese Zahlen sprechen eindeutig für einen genetischen Faktor. Er kann zwar nicht die Ätiologie insgesamt erklären, wohl aber die ausgeprägte Krankheitsbereitschaft im Sinne einer erhöhten Vulnerabilität. Das Maß der Heritabilität ist allerdings schwer zu ermitteln. Obwohl die affektiven Psychosen unzweifelhaft und ausgeprägt genetisch mitbedingt sind, sind sie doch therapeutisch in hohem Maße beeinflussbar und sogar in ihrem Verlauf prophylaktisch wesentlich zu verbessern. Ebenfalls in Betracht kommen neurochemische Faktoren. Seit über 30 Jahren existieren Hypothesen, wonach depressive Erkrankungen mit einer Verminderung der Neurotransmitter

Noradrenalin und Serotonin zusammenhängen sollen (Amindefizit- Hypothesen, [98]). Studien wiesen bei depressiven Patienten im Vergleich zu Gesunden erniedrigte Konzentrationen insbesondere von Noradrenalin bzw. Serotonin nach [99], [100], [101]. Hauptunterstützung erfuhr diese Hypothese durch die Aufklärung des Wirkmechanismus der Antidepressiva, welche die Aminkonzentrationen im synaptischen Spalt entweder durch Wiederaufnahmehemmung von Noradrenalin und/ oder Serotonin oder durch Blockade des Abbaus der genannten Neurotransmitter erhöhen. Inzwischen haben sich für die Amin- Hypothesen Modifikationen erhalten. Anstelle der Betrachtung isolierter Veränderungen steht heute das Konzept der Dysbalance verschiedener Neurotransmitter im Vordergrund, wobei auch Veränderungen der Dichte und Empfindlichkeit von Rezeptoren wichtig zu sein scheinen [102]. So zeigen Untersuchungen der neurobiochemischen Wirkungen der Antidepressiva, dass es nach der akuten Wirkung auf die Neurotransmission vor allem zu Empfindlichkeitsveränderungen der Rezeptoren kommt (u.a. Herabregulierung von β -Rezeptoren). Bei Manien findet sich ein gesteigerter Katecholaminstoffwechsel (Dopamin und Noradrenalin- Erhöhung). Neuroendokrinologische Befunde weisen auf Regulationsstörungen der Hypothalamus- Hypophysen- Nebennierenrinden bzw. Schilddrüsenachse hin. So findet sich bei einem hohen Prozentsatz der Depressiven ein Hyperkortisolismus, bei ca. 50% ein pathologischer Dexamethason-Suppressionstest („Stress-Hypothese“ der Depression). In Stimulationstests zeigte sich, dass unter anderem die Freisetzung von ACTH auf CRH- Gabe sowie von TSH nach TRH- Gabe reduziert ist [101], [103], [104], [105] [106], [107], [108]. Im Hinblick auf die zirkadiane Rhythmik erscheinen die Tagesschwankungen der Depressionssymptomatik und die Schlafstörungen bedeutsam. Jedoch sind diese beiden oben beschriebenen Merkmale unregelmäßig, inkonstant und unspezifisch. Wahrscheinlich ist die sog. typische Tagesschwankung (mit Morgentief) nicht ein Melancholiesymptom, sondern Ausdruck der physiologischen zirkadianen Rhythmik, die qualitativ durch die melancholische Erlebnisveränderung akzentuiert wird. Auch schwere psychische

Belastungen und Konflikte können zum Ausbruch einer melancholisch-depressiven oder manischen Phase beitragen. Diese sog. psychoreaktive Auslösung ist jedoch nicht die Regel, sie findet sich nur bei dem kleineren Teil der Erkrankungen [109]. Die meisten Melancholien und Manien beginnen und verlaufen anscheinend relativ unabhängig von Umwelteinflüssen. Die Häufigkeit psychoreaktiv ausgelöster Episoden ist schwer anzugeben. Man rechnet bei melancholischen Depressionen mit 10-35%, bei Manien mit 7-15%. Außerdem gibt es somatische Erkrankungen, die affektive Psychosen auslösen können. Diese sogenannte symptomatische melancholische Depression bzw. Manie kann z.B. bei M. Parkinson, M. Wilson und unter Cortisontherapie auftreten. Zusammenfassend spricht der heutige Wissensstand für eine multifaktorielle Ätiologie, anscheinend aber mit anders akzentuiertem Bedingungsgefüge als vergleichsweise bei Schizophrenie: bei affektiven Psychosen wurden keine morphologischen Hirnschäden festgestellt [96]. Es wurden relevante chronobiologischen Befunde erhoben. Affektpsychotische Episoden sind in der Manifestation und im Verlauf weniger von psychosozialen Faktoren abhängig. Der Verlauf der Erkrankung ist aber in höherem Maße einer medikamentösen Prophylaxe zugänglich.

1.3.4 Therapie affektiver Psychosen

Grundlage der Depressionsbehandlung ist das stützende ärztliche Gespräch (supportive Psychotherapie). Je nach ätiologischem Schwerpunkt stehen entweder die medikamentöse Therapie, die Psychotherapie oder andere Therapieformen im Vordergrund. Initial steht die Abschätzung der Suizidalität im Vordergrund. Wegen des hohen Suizidrisikos muss diese Thematik obligat in geeigneter Form angesprochen werden. Leicht depressive Episoden und Verstimmungszustände werden durch supportive Psychotherapie behandelt. Ausgeprägte Depressionen erfordern spezifische Therapien. Im Zentrum biologischer Behandlungsverfahren stehen heute Antidepressiva, wie z.B.

trizyklische Antidepressiva (z.B. Amitriptylin). Nachteile dieser Substanzen sind anticholinerge Nebenwirkungen und Blutdrucksenkung. Desweiteren werden Selektive Serotonin Reuptake Hemmer (z.B. Citalopram) und reversible Monoaminoxidase- A- Hemmstoffe (z.B. Moclobemid) eingesetzt. Antidepressiva weisen eine Wirklatenz von 1-3 Wochen auf, auf die der Patient unbedingt hingewiesen werden muss. Häufig ist in dieser Phase eine zusätzliche Gabe von Benzodiazepinen oder niedrigpotenten Neuroleptika nötig. Bei rezidivierenden Verläufen kommt die Rezidivprophylaxe mit einem Antidepressivum oder Lithium im Betracht. Weitere biologische Therapieverfahren sind die Lichttherapie (bei Herbst- Winter- Depression) die Schlafentzugsbehandlung und als ultima ratio bei wahnhaften, psychotischen Depression mit hochgradiger Suizidalität oder Resistenz auf Antidepressiva, die Elektrokrampftherapie. Als spezielle Psychotherapieverfahren haben sich die kognitive Verhaltenstherapie und die interpersonelle Psychotherapie etabliert. Diese Verfahren beinhalten vor allem die Korrektur negativer Realitäts- und Selbstbewertungen, den schrittweise Aufbau von Aktivitäten, die Förderung von Selbstsicherheit und sozialer Kompetenz sowie die therapeutische Beeinflussung der Interaktionen des Depressiven mit seinen nahen Bezugspersonen. Die Akutbehandlung der Manie gestaltet sich wegen des in der Regel fehlenden Krankheitsgefühls häufig sehr schwierig. Bei ausgeprägter Symptomatik ist eine stationäre Behandlung erforderlich, wegen fehlender Krankheitseinsicht evtl. eine richterliche Einweisung notwendig. Entscheidend ist die medikamentöse Therapie mit Carbamazepin und/ oder einem Neuroleptikum. Gleichzeitig sollte darauf geachtet werden, dass der Patient sich psychomotorisch abreagieren kann. Nach der Akuttherapie mit Antidepressiva sollte eine Rückfallprophylaxe erfolgen. Mehr als 2 schwere oder 3 depressive Episoden sind eine Indikation für eine Langzeittherapie. Bei bipolaren affektiven Psychosen und rezidivierenden Manien wird eine Rezidivprophylaxe mit Lithium bzw. Carbamazepin durchgeführt.

1.4 Schizoaffektive Psychosen

Schizoaffektive Psychosen sind seltene Erkrankungen im Überschneidungsgebiet schizophrener und affektiver Psychosen. Die Symptomatik ist zusammengesetzt aus melancholisch- depressiven oder manischen Symptomen einerseits und schizophrenen Störungen andererseits, insbesondere katatonen, paranoiden und halluzinatorischen Symptomen, aber auch Zerfahrenheit des Denkens und anderen Grundsymptomen. [110], [111].

1.4.1 Ätiologie

Der genetische Faktor scheint auch bei dieser Erkrankung von Bedeutung zu sein. In den Familien betroffener Patienten ist die Häufigkeit von schizophrenen und affektpsychotischen Erkrankungen größer als in der Allgemeinbevölkerung [112]. Es gilt auch hier was über die multikonditionale Ätiologie der schizophrenen und affektpsychotischen Psychosen gesagt wurde. Schizoaffektive Psychosen sind bisher vergleichsweise wenig untersucht worden.

1.4.2 Therapie schizoaffektiver Psychosen

In der Akutphase einer schizoaffektiven Erkrankung steht eine neuroleptische Behandlung im Vordergrund. Bei der manischen Form ist diese Behandlung in der Regel ausreichend, bei unzureichender Wirksamkeit ist sie gegebenenfalls mit Lithium oder Carbamazepin zu kombinieren. Bei der depressiven Form kann zusätzlich der Einsatz von Antidepressiva indiziert sein. In der Langzeitbehandlung ist bei rezidivierendem Verlauf oft eine prophylaktische neuroleptische Langzeitmedikation ausreichend. Bei Überwiegen von affektiver

Symptomatik ist die alleinige Behandlung oder die Kombination mit Lithium, Carbamazepin oder Valproat angezeigt [113], [114], [115], [110]. Als nicht-pharmakologische Maßnahmen haben sich Trainingsprogramme - insbesondere das Integrierte Psychologische Trainingsprogramm (IPT) - als günstig erwiesen, die auch bei Patienten mit Schizophrenie empfohlen werden [86].

1.5 Fragestellung

Wie bereits erwähnt verläuft die Infektion mit *T. gondii* beim Immunkompetenten in der Regel inapparent und komplikationslos. Durch die ziemlich rasch einsetzende Bildung von Zysten entziehen sich die Toxoplasmen der Immunabwehr. Sie sind dadurch in der Lage in immunkompetenten Wirten über viele Jahre latent zu persistieren. Regelmäßig kommt es jedoch durch Ruptur bradyzoitenhaltiger Zysten zu einer Auseinandersetzung des Immunsystems mit dem Erreger. Diese fortlaufende Stimulierung des Immunsystems stellt nun seit einiger Zeit die angenommene friedliche Koexistenz zwischen Wirt und Erreger in Frage. Aufgrund der bevorzugten Lokalisation der Zysten werden *T. gondii*-induzierte neurologische oder psychiatrische Krankheiten diskutiert [6]. Insbesondere ein möglicher Zusammenhang zwischen Toxoplasmose und Schizophrenie ist mehrfach beschrieben worden, da neuroimmunologisch eine Aktivierung des Immunsystems bei Schizophrenen festgestellt werden konnte [116] [117] [118] [119]. Außerdem wurde in einigen Studien beobachtet, dass Patienten mit Schizophrenie häufiger *T. gondii* seropositiv waren als Personen, die nicht an einer Schizophrenie leiden [120] [121] [122]. Die vorliegende Arbeit hat sich mit der Frage einer möglichen Disposition für psychiatrische Erkrankungen bei einer Infektion mit *T. gondii* beschäftigt. Es wurden Patienten mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen, die je nach Diagnose, Gruppen von C1- C4 zugeordnet wurden, untersucht. Der Gruppe C1 gehörten schizophrene Patienten, C2 schizo- affektive, C3 manisch- depressive und C4

depressive Patienten an. Die Gruppe C5 umfasste ein psychisch gesundes Kontrollkollektiv. Neben serologischen Untersuchungen, die mit dem indirekten Immunfluoreszenztest (IIFT) erhoben wurden, erfolgte hier erstmals die Untersuchung zellulärer Parameter. Obwohl die zelluläre Immunreaktion bei der Abwehr des Erregers von zentraler Bedeutung ist, haben sich in der Diagnostik serologische Nachweisverfahren durchgesetzt. Zur Messung der zellulären Immunantwort erfolgten die Bestimmung des T- Zellwachstums und die Messung von Zytokinen nach Stimulation mit Toxoplasmen- Lysat (TLA). Nach Präparation von peripheren Blutlymphozyten (PBL) aus heparinisiertem Vollblut und deren Stimulation mit TLA, wurden nach einer Latenz von 5,7, und 9 Tagen die Zellen mit ^3H - Thymidin radioaktiv markiert und weitere 24 Stunden inkubiert. Durch Einbau von Thymidin in die zelluläre DNA wurde die Messung der Proliferation ermöglicht. Die Überstände der mit TLA stimulierten PBL wurden am achten Tag nach Inkubation entnommen. Hieraus erfolgte mittels ELISA die Bestimmung von sezernierten Zytokinen. In erster Linie ist das überwiegend von $\text{T}_{\text{H}1}$ - Zellen produzierte Zytokin $\text{IFN-}\gamma$ zu nennen. Die Produktion von $\text{IFN-}\gamma$ ist der wichtigste immunologische Effekt gegen Toxoplasmen. Dies haben auch Neutralisationsversuche in vitro gezeigt [123]. Zur Differenzierung von $\text{T}_{\text{H}1}$ und $\text{T}_{\text{H}2}$ - Antwort, erfolgte zudem die Bestimmung von Zytokinen, die überwiegend von $\text{T}_{\text{H}2}$ - Zellen produziert werden (IL-5 und IL- 4). Eine spezifischere Messung mit genauerer Identifizierung der an der Immunreaktion beteiligten Zellen und der gleichzeitigen Bestimmung intrazellulärer Cytokine ($\text{IFN-}\gamma$, IL-4), erfolgte mit der Durchflusszytometrie. Die Identifizierung aktivierter Zellen gelang durch Messung des Aktivierungsantigens CD69. Neben $\text{IFN-}\gamma$ wurde hier zur Messung der $\text{T}_{\text{H}2}$ - Antwort, IL- 4 bestimmt.

Insgesamt wurden 1213 Probanden in die Studie eingeschlossen.

2 Material und Methoden

2.1 Studienpopulation

2.1.1 Patientengruppen / Probanden

In die Studien wurden Patienten mit verschiedenen Erkrankungen aus der psychiatrischen Klinik der Universität Kiel in einem Zeitraum von 2002- 2005 einbezogen. Die Diagnosestellung und Kategorisierung in Gruppen von C1-C4, wurde durch 2 langjährig erfahrene Fachärzte für Psychiatrie vorgenommen. Der Gruppe C1 gehörten schizophrene Patienten, C2 schizoaffektive, C3 manisch- depressive und C4 depressive Patienten an. Die Laboruntersuchungen erfolgten wegen des Transports Kiel- Düsseldorf, jeweils ca. 24h nach Blutentnahme. Gesunde Probanden wurden teils ebenfalls aus Kiel, teils aber auch aus Düsseldorf rekrutiert. Dabei erfolgte die Laboruntersuchung von Probanden aus Düsseldorf ebenfalls erst nach 24h um möglichst gleiche Bedingungen beizubehalten.

2.1.2 Kontrollgruppe / Probanden

Zur Klärung des Zusammenhangs einer Toxoplasmen- Infektion mit der Entstehung von psychiatrischen Erkrankungen, wurden auch freiwillige Probanden, die weder in der aktuellen Anamnese noch in der Vorgeschichte eine psychiatrische Erkrankung aufwiesen, für die Untersuchungen herangezogen und als gesunde Kontrollgruppe C5 bezeichnet. Da die Durchseuchungsrate mit Toxoplasmen regional unterschiedlich und altersabhängig ist, wurden die gesunden Probanden hinsichtlich ihres Alters den Patientengruppen angepasst und aus derselben geographischen Region rekrutiert.

2.2 Biologische Materialien

2.2.1 Zell- Linien

Maus- Fibroblasten- Zell- Linie L929

Die Zellen dienen als Wirtszellen für Toxoplasmen. Die Zell- Linie stammt aus normalem subkutanem Gewebe einer Maus und wurde 1940 als eine der ersten von W.R. Earle etabliert. Fibroblasten wurden von ATCC (CRL-2148)/ Rockville, Maryland, USA bezogen. Sie werden in IMDM, 5% FCS (v/v) in 25 cm² Kulturflaschen bis zur Konfluenz kultiviert und nach der Ernte in gewünschter Verdünnung neu ausgesät.

BK- Stamm *Toxoplasma gondii*

T. gondii des Stammes BK wurde von Dres. Saathoff und Seitz, Institut für Parasitologie, Bonn zur Verfügung gestellt [124].

Periphere Blutlymphozyten

Periphere Blutlymphozyten wurden aus 50ml heparinisiertem Spenderblut aufgereinigt.

2.2.2 Medienkomponenten und Zytonkine

Bovine Serum Albumin (BSA)

PAA Laboratories GmbH

Fetales Kälber Serum (FCS)

Cytogen

Heparin	Boehringer Ingelheim
IFN- γ	R&D Systems
IL-5	R&D Systems
Iscoves Modified Dulbecco 's Medium (IMDM)	Bio Whittaker
Kaninchen Serum (KS)	Serotec

2.2.3 Lösungen und Puffer

Aufreinigung mononukleärer Zellen aus peripherem Blut

Ficoll- Hypaque	Amersham Pharmacia Biotech
PBS pH 7,3	Serag Wiessner
Trypanblau 0,4%	Sigma

Vorbereitung der Zellen für FACS

FACS Puffer	PBS, 5% (v/v)FCS, 0,1% (w/v) Natrium- Azid
-------------	---

ELISA- Test

Wasch- Puffer	0,05% (v/v) Tween 20 in PBS, pH 7,2- 7,4
Reagent Diluent	0,1% (w/v) BSA, 0,05% (v/v) Tween 20 in 20mM Trizma Base, 150 mM NaCl, pH 7,2- 7,4

Block Puffer 1% (w/v) BSA , 5% (w/v)
Sucrose in PBS mit 0,05%
(w/v) NaN₃

2.2.4 Enzyme und Kitsysteme

Duo ELISA Development System IFN- γ	R&D Systems
Duo ELISA Development System IL-5	R&D Systems
IFN- γ Duo Set ELISA- Kit	R&D Systems
Streptavidin Detektion	R&D Systems
Immunfluoreszenztest	bioMerieux, Lyon, France

2.2.5 Radionukleotide

(5,6-³H)- Uracil
Spezifische Aktivität: 1,78 TBq/ mmol

Amersham Pharmacia
Biotech

2.2.6 Antikörper

Anti- Maus IgG2a- PE	Dako
Anti- Maus IgG2b- FITC	Becton Dickinson
Anti- Human CD69- PE	Becton Dickinson
Anti- Human IFN- γ FITC	Becton Dickinson
Anti- Human IL-4 APC	Becton Dickinson
Anti- Human CD4- Per PC	Becton Dickinson
Anti- Maus Vimentin	Santa Cruz Biotechnology

2.3 Sonstige Materialien

2.3.1 Laborgeräte

Analysenwaage	Mettler
Basic96 Harvester	Skatron
Flüssigkeitsszintillationszähler	LKB Wallac
Plattenszintillationszähler	LKB Wallac, 1205 Betaplate
CO2 Brutschrank	Heraeus
ELISA- Waschgeräte	Nunc, Immunowash 12
FACS- Calibur	Becton Dickinson
Flüssigkeitsszintillations- Zähler (LSC)	Wallac
Heat Sealer	LKB Wallac
Heizblock	Thermo- Dux
Light Box	LKB Wallac
Mikroskope	Zeiss
Neubauer Zählkammer	Neubauer
pH- Meter	Knick
Sample Bagging Support	LKB Wallac
Tecan Rainbow Photometer	Tecan
Zentrifugen	Heraeus, Beckmann

2.3.2 Verbrauchsmittel

Cryotubes (1,8 ml)	Nunc
Eppendorf- Reaktionsgefäße	Eppendorf

Reaktionsgefäße (50ml/ 15ml)	Becton Dickinson
FACS- Röhrchen	Becton Dickinson
Pipettenspitzen	Biorad
Printed Filtermat	LKB Wallac
Sample Bag	LKB Wallac
Szintillations- Röhrchen	LKB Wallac
Sterile Multi well Platten	Greiner
Sterile Serumpipetten (5/10/25 ml)	Falcon
Zellkulturflaschen (25/75 cm ²)	Corning Incorporated

2.3.3 Chemikalien

3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin Liquid	
Substrat System (TMB)	Sigma
D- Mannitol	Sigma
Dimethylsulfoxid (DMSO)	Roth
Ethanol	Roth
Ficoll- Paque Plus	Amersham Pharmacia Biotech
Glycerin	Merck
HCl (37%)	Merck
Natriumazid (NaN ₃)	Merck
Natriumchlorid	Roth
Saponin	Sigma
Sucrose	Merck
Titriplex (EDTA)	Merck
Tween20	Merck

Szintillations- Cocktail	LKB Wallac
Wasserstoffperoxid (30%)	Merck

2.4 Methoden der Zellkultur

2.4.1 Kultivierung und Ernte der Mausfibroblasten L929

Die Mausfibroblasten wurden in I-Med5% in liegenden 10ml Kulturflaschen in einer mit 10% CO₂ angereicherten und wasserdampfgesättigten Atmosphäre bei 37°C kultiviert. Alle 3-4 Tage war die Kulturflasche zur Ernte dicht genug bewachsen. Die adhärenenten Mausfibroblasten wurden entweder mit Medium vom Boden gespült oder durch einen Zellschaber (Greiner) von der Oberfläche gelöst, und in ein Zentrifugenröhrchen überführt. Ca. 1 ml wurde dabei in der Flasche zurückbehalten und diese zur Weiterkultivierung mit 5ml I-Med5% aufgefüllt. Nach einer 10-minütigen Zentrifugation mit 1200 U/min. wurde das Sediment in 2 ml I-Med5% resuspendiert und die Zellzahl in der Neubauer Zählkammer bestimmt. Die Zellen wurden anschließend als Wirtszellen zur Kultivierung der Toxoplasmen verwendet.

2.4.2 Kultivierung und Ernte der Toxoplasmen

Toxoplasma gondii, als obligat intrazellulär parasitierendes Protozoon, benötigt zur Vermehrung eine Wirtszelle. Als solche dient die Mausfibroblastenlinie L929. Es wurden $1-1,5 \times 10^6$ L929-Zellen mit $3-10 \times 10^6$ Toxoplasmen in eine 10ml Kulturflasche gegeben und 3-4 Tage kultiviert. In dieser Zeit wurden nahezu alle Mausfibroblasten infiziert und zerstört. Die daraufhin wieder extrazellulär liegenden Toxoplasmen wurden dann vom Boden der Kulturflasche gespült und in ein 5ml Zentrifugenröhrchen überführt. Bei Raumtemperatur erfolgte eine 5-minütige Zentrifugation bei 600 U/min. um die mitabgespülten Mausfibroblasten

und deren Zelltrümmer sedimentieren zu lassen. Die im Überstand verbliebenen Toxoplasmen wurden in ein weiteres Zentrifugenröhrchen überführt und 10 Minuten bei 2000 U/min zentrifugiert um die Toxoplasmen zu pelletieren. Der Überstand wurde abgesaugt und das Pellet mit 5ml RPMI ohne Phenolrot resuspendiert. Nach entsprechender Verdünnung mit Trypanblau wurden die Toxoplasmen ausgezählt und für die entsprechenden Experimente weiterverdünnt. Es hat sich als günstig erwiesen die Toxoplasmen ohne Kühlung zu zentrifugieren und sofort für den Versuch zu verwenden oder wieder den Wirtszellen zuzuführen.

2.4.3 Ficoll Hypaque Zentrifugation: Isolierung mononukleärer Zellen aus peripherem Blut

Aus peripherem Blut eines Spenders werden in der Ficoll Hypaque Zentrifugation mononukleäre Zellen (Lymphozyten, Monozyten) von roten Blutkörperchen und Granulozyten getrennt. Die Auftrennung gelingt über einen Dichtegradienten bei dem sich die mononukleären Zellen an der Phasengrenze von Blut/ PBS und Ficoll anreichern. Die roten Blutkörperchen und die meisten polymorphkernigen Leukozyten sammeln sich aufgrund ihrer größeren Dichte im Pellet. Spenderblut wird im Verhältnis 1:1 mit PBS verdünnt, anschließend wird auf 12,5 ml Ficoll Hypaque vorsichtig das mit PBS verdünnte Blut pipettiert, so dass noch keine Mischung von Blut- und Ficoll- Phase eintritt. Der Dichtegradient wird bei 2500 U/min. zentrifugiert und anschließend der Überstand bis zur sichtbaren, weißen Schicht mit mononukleären Zellen abgesaugt. Um eine Thrombozyten Kontamination möglichst gering zu halten werden die PBL mit PBS resuspendiert und bei Raumtemperatur und 1800U/min. erneut zentrifugiert. Dabei werden die PBL pelletiert und Thrombozyten, die im Überstand verbleiben, abgesaugt. Dieser Vorgang wird zwei weitere Male bei 1200 U/min. und 800 U/min wiederholt. Schließlich wird das Pellet mit 5 ml RPMI resuspendiert. Nach Verdünnung mit Trypanblau wird

die Zellzahl in der Neubauer Zählkammer bestimmt und für die Experimente entsprechend weiter verdünnt. Die Lymphozyten werden nun in 96-well-Platten kultiviert, wobei sich pro Vertiefung $1,5 \times 10^5$ befinden, und je nach Fragestellung mit verschiedenen Additiven versetzt. Außerdem wird auf jeder Platte eine Kontrolle angelegt um Reaktionen gegen das Kulturmedium erkennen zu können. Insgesamt werden fünf Platten angelegt. In einem ersten Testverfahren wird die Funktionsfähigkeit der Lymphozyten getestet. Diese werden mit Phytohämagglutinin (PHA) ($1\mu\text{g/ml}$), einem Mitogen stimuliert, wobei viele verschiedene CD4^+ -T-Zellen effizient stimuliert werden. Drei Tage später erfolgt die Markierung mit ^3H -Thymidin. In drei weiteren Untersuchungen werden die PBL jeweils mit Toxoplasmen-Lysat in unterschiedlicher Konzentration ($0,01/ 0,1/ 1/ 10 \mu\text{g/ml}$) stimuliert und am 5., 7., und 9. Tag nach Inkubation markiert, um den optimalen Zeitpunkt der Proliferation zu erfassen. Hierbei kann festgestellt werden, ob antigenspezifische Lymphozyten vorgelegen haben. Außerdem werden die PBL mit LZL, Lysat von Zellen in denen die Toxoplasmen angezüchtet worden sind, inkubiert. Hierbei soll eine Sensibilisierung der PBL gegen die Wirtszelle der Toxoplasmen ausgeschlossen und gesichert werden, dass die Immunantwort der PBL nach Stimulation mit TLA spezifisch gegen Toxoplasmen gerichtet ist. Schließlich werden in einem weiteren Test PBL mit TLA oder LZL stimuliert und deren Überstände nach einer Inkubationszeit von acht Tagen entnommen. In diesen Überständen werden mittels ELISA, die sezernierten Zytokine bestimmt (s.u.).

2.4.4 Fluoreszenzaktivierte Zell- Scanner Analyse zur Charakterisierung von Oberflächenantigenen und intrazellulärer Zytokine peripherer Blutlymphozyten

Becton Dickinson, Immunocytometry Systems

Zur Charakterisierung von Lymphozyten werden diese mit monoklonalen Antikörpern gegen spezifische Zelloberflächen- Moleküle und intrazelluläre Zytokine markiert. Die Antikörper (Anti- CD69, Anti- CD4, Anti- IL-4, Anti- IFN- γ) sind an fluoreszierende Moleküle gekoppelt (Fluorescein (FITC) oder Phycoerythrin (PE)) und lassen sich so im Durchflusszytometer (FACS) erfassen und charakterisieren. Damit ein Antikörper spezifisch ein Zytokin in der Zelle binden kann, ist es nötig, die Zellen zunächst zu fixieren und anschließend zu permeabilisieren. 0,5 ml heparinisertes Vollblut werden in verschiedenen Testansätzen jeweils mit Toxoplasmen- Lysat (TLA), Staphylokokken-Enterotoxin B (SEB) und Lysat, von Zellen in denen die Toxoplasmen angezüchtet worden sind (LZL) in einer Konzentration von 1 μ g/ml stimuliert und bei 37°C 2 Stunden inkubiert. Die Stimulierung mit SEB dient der Positivkontrolle um die Funktionsfähigkeit der Zellen nachzuweisen, die Testung nach Hinzugabe von LZL soll eine Sensibilisierung der Lymphozyten gegen die Wirtszelle der Toxoplasmen ausschliessen. Schließlich wird zur Negativkontrolle ein weiterer Testansatz angelegt, der nicht mit Antigenen versetzt wird, um Reaktionen auf das Kulturmedium erkennen zu können. Anschließend wird Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor in einer Konzentration von 10 μ l/ml dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Nach Hinzugabe von jeweils 50 μ l EDTA Lösung, erfolgt eine 15minütige Inkubation, gefolgt von der Zugabe von jeweils 1ml FACS Lösung und einer weiteren 10minütigen Inkubation. Nach einem Waschvorgang mit 2 ml FACS- Puffer (650g, 10min., 4°C), erfolgt die Hinzugabe von jeweils 0,5 ml einer FACS Permeabilisierungslösung. Nach einem weiteren Waschvorgang (s.o.), erfolgt die Gabe der fluoreszenzaktivierten Antikörper in einer Konzentration von jeweils 1 μ g/ml. Die Inkubation erfolgt für

30 Minuten im Dunkeln (4°C). Nach einem weiteren Waschvorgang (s.o.), werden jeweils 200µl einer 1% Paraformaldehyd Lösung zur Fixierung hinzugegeben. Bei allen FACS- Analysen wird zunächst immer mit der Negativ-Kontrolle die Voreinstellung des Gerätes vorgenommen. Es wird eine Populationswolke festgelegt, in der die Messung erfolgt und aus der Partikel kleinster Größe ausgeschlossen sind. Anschließend werden jeweils die PE und FITC markierten Positivkontrollen gegeneinander kalibriert. Die FACS- Analyse und Auswertung erfolgen mit dem Programm Cell Quest der Firma Becton Dickinson.

2.5 Proteinbiochemische Methoden

2.5.1 ELISA- Tests

Duo ELISA Development R&D Systems

Zum qualitativen und quantitativen Nachweis von Cytokinen in Kulturüberständen wurden ELISA- Tests durchgeführt. Die hier aufgeführten ELISAs sind Sandwich- ELISAs bei denen die Cytokine an einen Antikörper binden, der an eine 96-well ELISA Platte gebunden ist. Der Nachweis erfolgt mit einem zweiten Antikörper, der das gebundene Cytokin detektiert und zudem biotyniliert ist, so dass mit Hilfe von Streptavidin- HRP (Horseradish Peroxidase) und einem chromogenen Substrat ein Farbumschlag detektiert werden kann. Die Durchführung der ELISAs erfolgt nach den Anweisungen des Herstellers. Der sogenannte Capture Antikörper wird über Nacht an eine Immunoabsorb-Platte gebunden. Unspezifische Bindungen werden mit BSA- haltigem Block-Puffer (1h, RT) abgedeckt. Nach dreimaligem Waschen der ELISA- Platten mit PBS-0,2% (v/v) Tween werden die zu untersuchenden Überstände zugegeben, welche zuvor mit Reagent Diluent jeweils im Doppelansatz 1:2 und 1:4 verdünnt wurden. Das Gesamtvolumen pro Vertiefung beträgt 400µl. Die

Inkubation erfolgt für 2 Stunden bei RT. Anschließend wird erneut dreimal gewaschen. Der Detektions- Antikörper (Anti- IL-5, Anti- IFN- γ) inkubiert für weitere 2 Stunden. Dabei werden jeweils 100 μ l des zuvor mit 10ml Reagent Diluent verdünnten Detektions- Antikörpers (56 μ l) pro Vertiefung pipettiert. Nicht gebundener Antikörper wird gewaschen. Nach der Inkubation mit Streptavidin- HRP für 20 min (100 μ l/ Vertiefung), wird eine Substrat- Lösung zugegeben (100 μ l/ Vertiefung), die von dem gekoppelten HRP im Dunkeln umgesetzt wird und zu einer Farbreaktion führt. Diese Reaktion wird nach etwa 20 min durch Zugabe von 2 M HCl (50 μ l/ Vertiefung) abgestoppt. Während den einzelnen Inkubationen werden die Platten mit einem adhäsiven Plastikstreifen abgedeckt. Die Auswertung der ELISAs erfolgt mit Hilfe eines Photometers (450 nm) und dem Tecan Easy Win Fitting Programm. Mit Hilfe einer Standardreihe des jeweiligen Cytokins (1000 pg bis 30 pg) kann die Menge des Cytokins in den Überständen quantifiziert werden.

2.5.2 Immunfluoreszenztest

bioMerieux, Lyon, France

Der indirekte Immunfluoreszenztest ist aufgrund seiner hohen Spezifität und Sensitivität in der Routinediagnostik weit verbreitet. Er ist ökonomisch und leicht durchzuführen. Als quantitativer Test ist der IgG- IFT geeignet. Auf Objektträgern fixierte, abgetötete Tachyzoiten werden mit verschiedenen Serumverdünnungen inkubiert, anschließend gewaschen und mit Fluoreszin-beladenem Anti- Human- Globulin und Evans- Blau als Kontrastfärbung behandelt. Unter dem Fluoreszenzmikroskop erkennt man im positiven Fall gelb- grün fluoreszierende Tachyzoiten oder Organismen mit fluoreszierenden Ringen. Für ein negatives Ergebnis sprechen rot gefärbte Tachyzoiten, die nicht oder nur an einem Pol fluoreszieren. Interpretation: Schon 5 Tage nach Infektion ist der Nachweis spezifischer IgG- Antikörper möglich. Innerhalb von 2

Monaten erreichen IgG- Immunfluoreszenztests ihr Titermaximum. Der reziproke Wert der Verdünnung, die noch positiv ist, ist als Titer definiert. Ab einem Titer von ≥ 16 spricht man von Seropositivität. Titer von $\leq 1:256$ lassen auf eine latente Infektion oder eine beginnende Erstinfektion schließen. Bei Werten $\geq 1:1024$ besteht ein begründeter Verdacht auf eine akute manifeste Toxoplasmose, die beim Auftreten klinischer Symptome behandelt werden sollte. Für eine Bewertung sind bereits wenige Verdünnungsstufen ausreichend. Die Ergebnisse im IgG- IFT werden subjektiv interpretiert.

2.6 Software

Die graphischen Darstellungen und die statistische Auswertung der Ergebnisse wurden mit „Prism 2,01“ (GraphPad Software, San Diego, USA) und MS Excel (Microsoft, Redmond, USA) erstellt.

3 Ergebnisse

Die pathophysiologischen Vorgänge vieler psychiatrischer Erkrankungen sind bis heute nicht endgültig geklärt. Eine gesteigerte immunologische Abwehr bei einer Infektion mit *T. gondii* steht im Verdacht, über eine Modulation im Neurotransmitter System, die Entstehung von Schizophrenien und affektiven Psychosen zu induzieren bzw. zu fördern. Die vorliegende Arbeit hat humorale und zelluläre Parameter psychiatrischer Patienten mit denen einer psychisch gesunden Kontrollgruppe verglichen, um mögliche immunologische Besonderheiten psychiatrischer Patienten zu erfassen. Es wurden Patienten mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen, die je nach Diagnose, Gruppen von C1-C4 zugeordnet wurden, untersucht. Der Gruppe C1 gehörten schizophrene Patienten, C2 schizoaffektive, C3 manisch- depressive und C4 depressive Patienten an. Die Gruppe C5 bestand aus einem psychisch gesunden Kontrollkollektiv.

3.1 Serologie

Die folgende Abbildung zeigt die Seroprävalenzraten von *Toxoplasma gondii*- AK der von uns untersuchten Patientengruppen. Die serologischen Befunde wurden mit dem Immunfluoreszenztest (IFT) erhoben. Insgesamt wurden 1213 Proben untersucht. Die Gruppe C1 enthielt n=536, C2 n=50, C3 n=381, C4 n=47 und C5 n=199 Probanden.

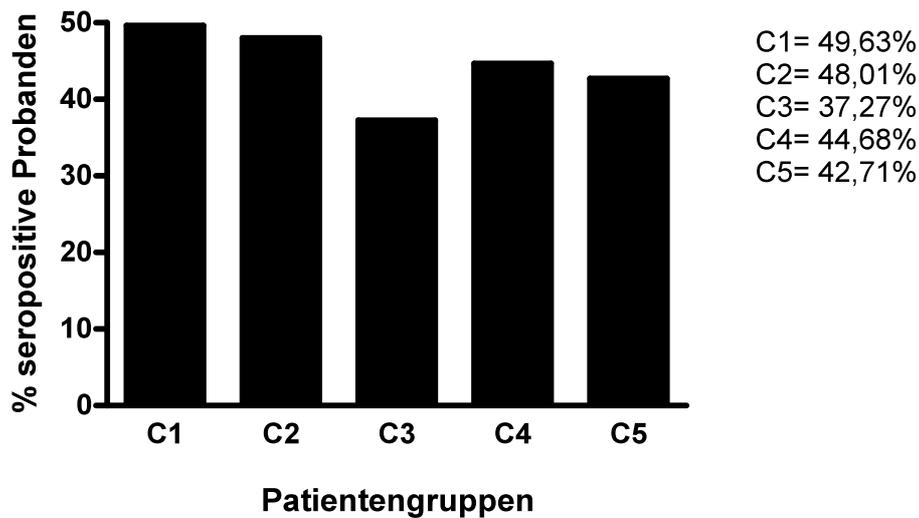


Abb. 1: Toxoplasmen Durchseuchung in den Patientengruppen C1 – C5

Dargestellt ist der prozentuale Anteil der seropositiven Probanden in den verschiedenen Patientengruppen.

Die Seroprävalenzraten psychiatrischer Patienten variieren zwischen 37,27% in C3 und 49,63% in C1. Die Rate bei nicht – psychiatrischen Patienten bewegt sich mit 42,71% ebenfalls in dieser Größenordnung. Eine erhöhte Durchseuchungsrate psychiatrischer Patienten ist somit nicht nachweisbar. Die Durchseuchungsquote aller untersuchten Proben betrug im Mittel 44,35%. Eine genauere Übersicht über die Titerverteilung in dem Patientenkollektiv gibt Abbildung 2.

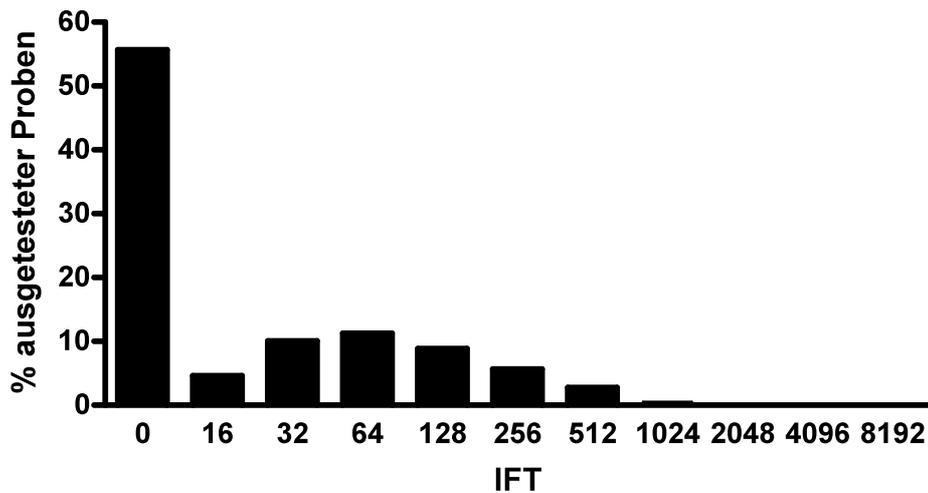


Abb. 2: FT-Titerverteilung aller untersuchten Proben

675 Probanden entsprechend einem Prozentanteil von 55,65% sind seronegativ. 492 Proben (40,56%) sind mit Titern zwischen 16 und 256 chronisch infiziert. 46 Patientenproben (3,78%) weisen Titer von größer 256 auf. Die hohen Titer weisen auf einen nicht allzu lange zurückliegenden Kontakt mit dem Erreger im Rahmen einer Primärinfektion oder eine Reaktivierung hin.

3.2 T - Zellwachstum nach Stimulation mit PHA und TLA

Der Hauptabwehrmechanismus bei chronischer Toxoplasmen- Infektion basiert auf zellulären Abwehrmechanismen. Dabei spielen T- Zellen eine wichtige Rolle. Erstmals erfolgte hier eine systematische Analyse verschiedener zellulärer Parameter bei Patienten mit psychiatrischen Erkrankungen. Nach in vitro Stimulation peripherer Blutlymphozyten (PBL) mit Toxoplasmen- Lysat (TLA), wurde die Proliferation der Lymphozyten gemessen. Die Isolierung der PBL aus heparinisierem Vollblut erfolgte mit einer Dichtegradientenzentrifugation und Verwendung von Ficoll. In einer Menge von 1×10^5 well wurden die PBL mit TLA in verschiedenen Konzentrationen (0,01/0,1/1,0/10 $\mu\text{l/ml}$) für 5 Tage inkubiert, um die optimale Antigenmenge zu eruieren. Anschließend wurden die Zellen mit ^3H - Thymidin radioaktiv markiert und weitere 24 Stunden inkubiert. Durch Einbau von Thymidin in die zelluläre DNA wurde die Messung der Proliferation ermöglicht. Die durch den radioaktiven Zerfall des Tritiums erzeugten Lichtblitze

wurden im β -Counter als „counts per minutes“ (cpm) gemessen und waren ein Maß für das Lymphozytenwachstum.

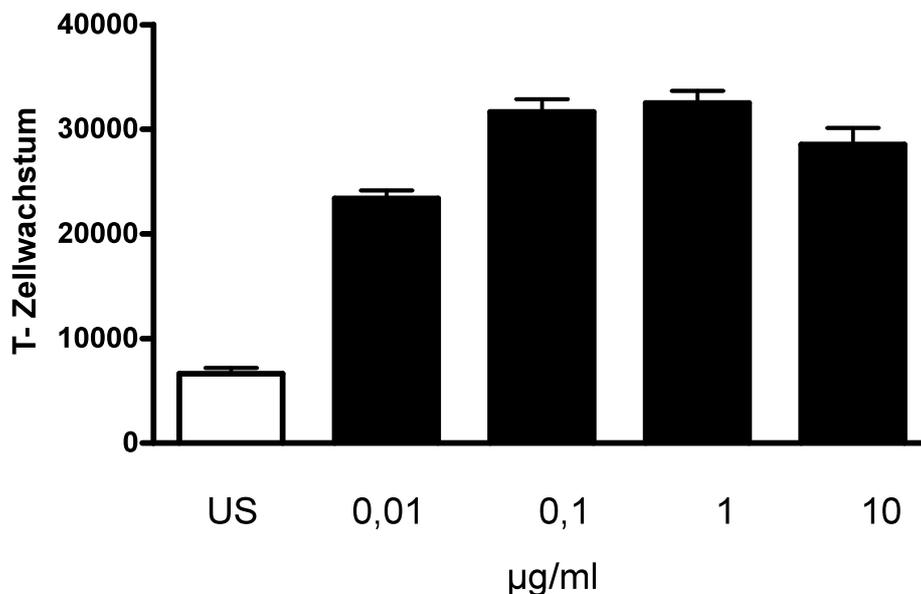


Abb. 3: TLA Titration am Beispiel des seropositiven Patienten C-1-81

Es wurden 1×10^5 PBL mit TLA (0,01/0,1/1/10 µg/ml) inkubiert. Fünf Tage später erfolgte die Markierung mit ^3H -Thymidin, weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Die unstimulierten Zellen wurden auf die gleiche Art und Weise inkubiert und radioaktiv markiert. Das stärkere Wachstum der stimulierten Zellen konnte somit eindeutig auf die TLA Stimulation zurückgeführt werden. Dargestellt sind Mittelwerte aus Vierfachbestimmungen mit Standardabweichung.

Im Durchschnitt kristallisierte sich die Konzentration von 1,0 µg/ml, wie auch in dem gezeigten Beispiel, als diejenige heraus bei der die besten Wachstumswerte gemessen wurden. In einem weiteren Testansatz wurde gleichzeitig die Vitalität der Lymphozyten getestet, in dem diese mit Phytohämagglutinin (PHA), einem starken Mitogen stimuliert wurden. Diese als Positivkontrolle dienende Maßnahme war erforderlich um die Funktionsfähigkeit der Zellen nachzuweisen. Im Folgenden ist die Lymphozyten- Proliferation nach

PHA Stimulation am Beispiel eines seropositiven und eines seronegativen Probanden dargestellt.

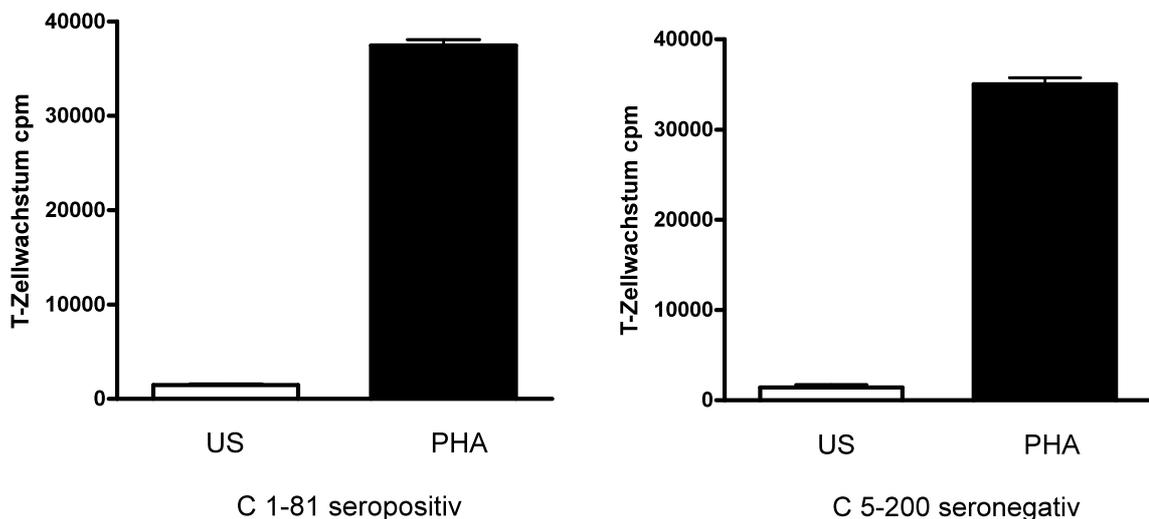


Abb. 4: T-Zellwachstum nach PHA Stimulation am Beispiel eines seropositiven und seronegativen Patienten

Es wurden 1×10^5 PBL mit PHA ($1\mu\text{g}/\text{ml}$) inkubiert. Drei Tage später erfolgte die Markierung mit ^3H -Thymidin, weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Die Behandlung der unstimulierten Zellen erfolgte nach dem gleichen Ablauf und diente der Kontrolle. Das stärkere Wachstum der stimulierten Zellen konnte somit eindeutig auf die PHA Stimulation zurückgeführt werden. Dargestellt sind Mittelwerte aus Vierfachbestimmungen mit Standardabweichung.

Das T- Zellwachstum beider Probanden ist nach PHA Stimulation stark, während die unstimulierten Zellen nur eine geringe Proliferation zeigen. Die Grundvoraussetzung für nachfolgende Untersuchungen war somit erfüllt. Der Lymphozytenproliferationstest nach Stimulation mit TLA wurde insgesamt drei Mal angelegt und am Tag fünf, sieben und neun (d5, d7, d9) nach Inkubation radioaktiv markiert, um den optimalen Zeitpunkt zur Proliferationsmessung zu erfassen. Das Wachstum der Zellen nach TLA Stimulation wird anhand der Probanden aus vorheriger Abbildung (Abb.4) gezeigt.

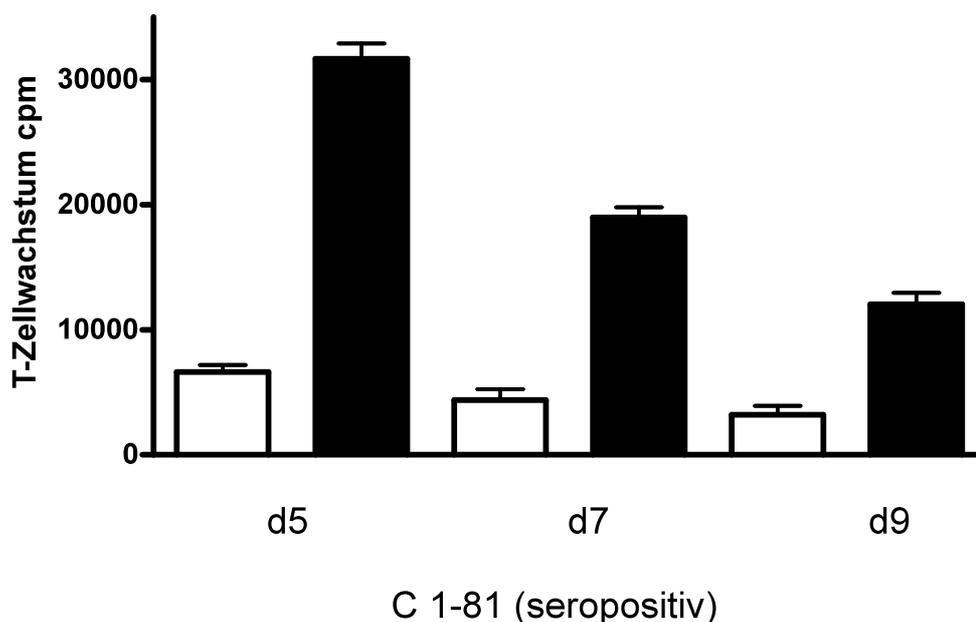


Abb. 5: T-Zell Wachstum eines seropositiven Probanden nach TLA Stimulation an Tag d5-9

Es wurden 1×10^5 PBL mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und am Tag 5/7/9 nach Inkubation mit ^3H -Thymidin markiert. Jeweils weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Dargestellt sind Mittelwerte aus Vierfachbestimmungen mit Standardabweichung.

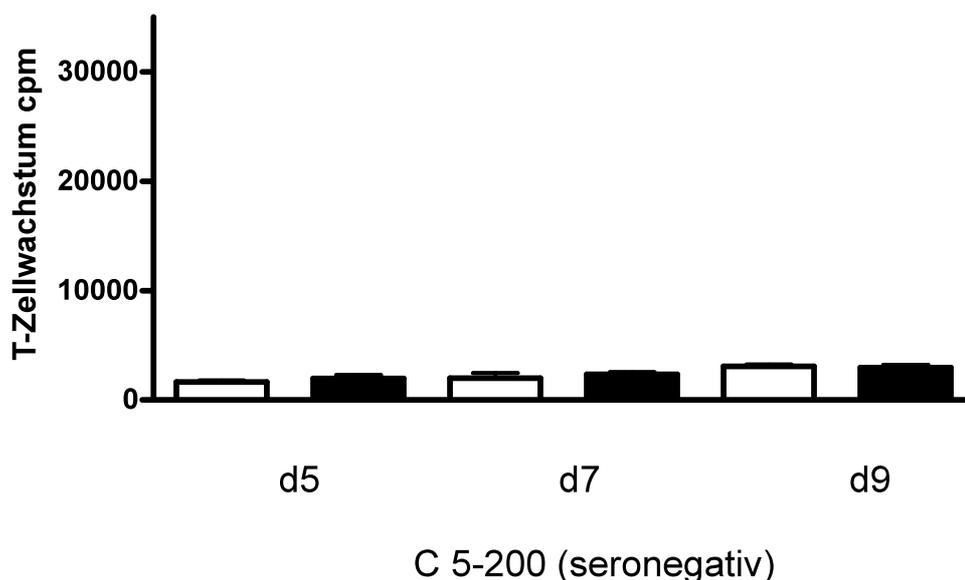
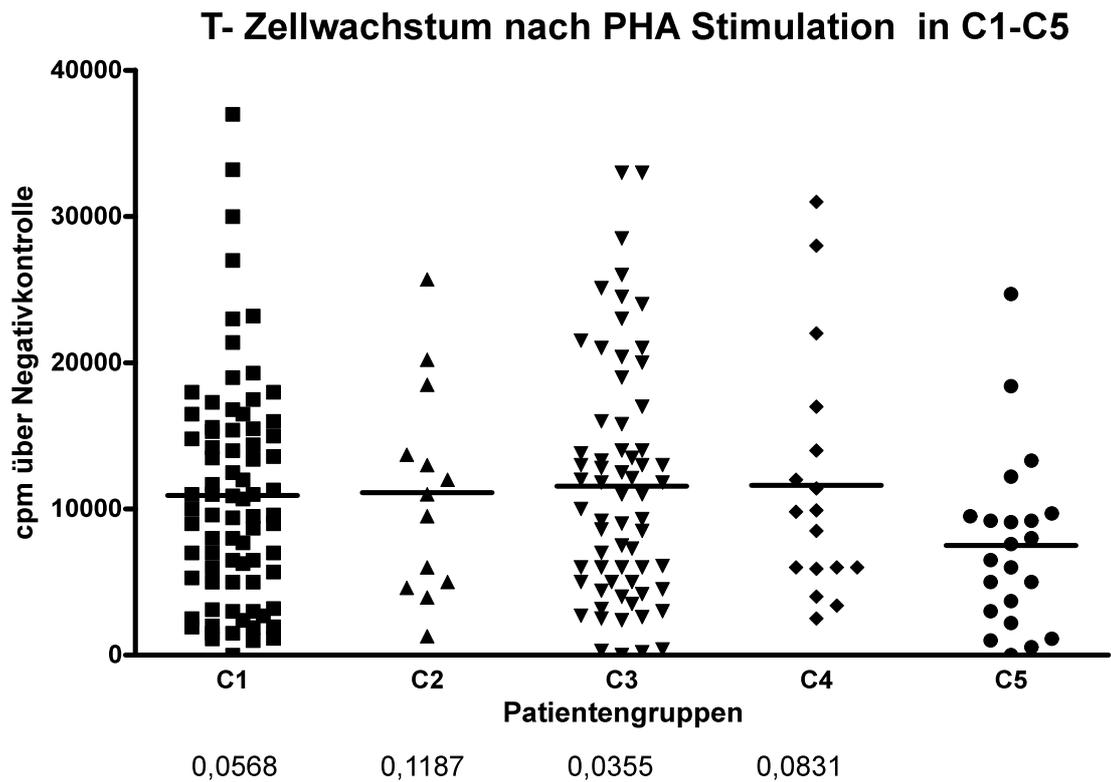


Abb. 6: T-Zell Wachstum eines seronegativen Probanden nach TLA Stimulation an Tag d5-d9

Es wurden 1×10^5 PBL mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und am Tag 5/7/9 nach Inkubation mit ^3H -Thymidin markiert. Jeweils weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -

Counter gemessen. Dargestellt sind Mittelwerte aus Vierfachbestimmungen mit Standardabweichung.

Das T- Zellwachstum der Probe des seropositiven Probanden ist deutlich stärker als das des Seronegativen, dessen Proliferation nach TLA Stimulation sich an allen drei Tagen kaum von der, der als Kontrolle dienenden, unstimulierten Zellen unterscheidet. Insgesamt wurden in den Wachstumstests 213 Proben getestet. Das durchschnittliche Proliferationsmaximum zeigte sich dabei am fünften Tag nach TLA Stimulation. Alle nachfolgenden Daten und Graphiken bezüglich des T-Zellwachstums nach TLA Stimulation beziehen sich daher auf das Wachstum am Tag fünf und die Stimulation in einer Konzentration von 1 µg/ml TLA. Die zusammenfassende Darstellung aller ausgetesteten Daten der Probanden zeigen die nachfolgenden Graphiken. Zunächst ist das Wachstum nach PHA Stimulation wiedergegeben. Die Messergebnisse sind dabei jeweils nach Gruppenzugehörigkeit bzw. nach der Höhe des Antikörper Titers zusammengefasst.

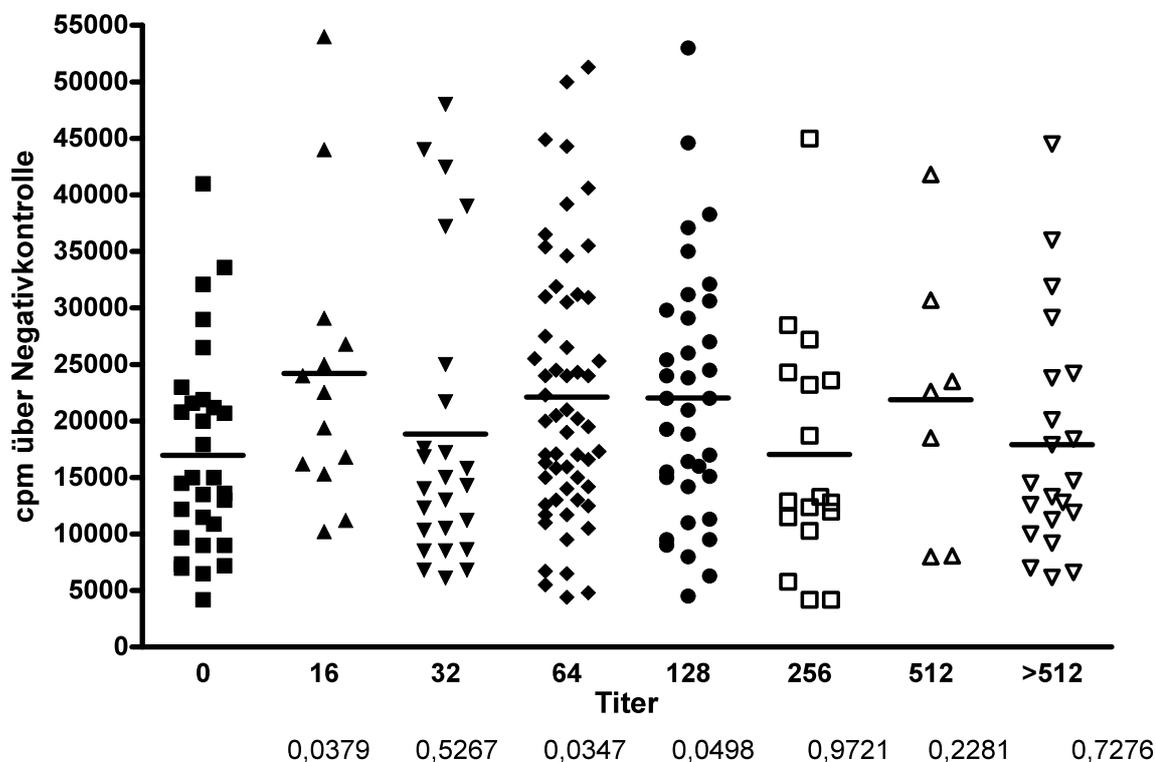


Statistischer p- Wert des T-Zellwachstums von Proben der Patientengruppen C1-C4 im Vergleich zu Proben der gesunden Kontrollgruppe C5

Abb. 7: T-Zellwachstum nach Stimulation mit PHA am Tag drei

Es wurden 1×10^5 PBL mit PHA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und 72 Stunden später mit ^3H -Thymidin markiert. Weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden von Proben der psychiatrischen Patienten zu den Proben der psychisch gesunden Kontrollgruppe C5 wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

T- Zellwachstum nach PHA Stimulation bei *T.g.*- AK negativen und positiven Proben



Statistischer p- Wert des T- Zellwachstums von seropositiven Proben
im Vergleich zu seronegativen Proben

Abb. 8: T-Zellwachstum nach Stimulation mit PHA am Tag drei

Es wurden 1×10^5 PBL mit PHA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und 72 Stunden später mit ^3H -Thymidin markiert. Weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Unter den Titerstufen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden seropositiver zu seronegativen Proben wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Die Proben zeigen im Durchschnitt eine starke Proliferation nach Stimulation mit PHA. Eine psychiatrische Erkrankung oder eine Infektion mit *T. gondii* hatte dabei keinen Einfluß auf das Wachstum. Die Unterschiede der Proben der Patientengruppen zu den Proben der Kontrollgruppe und die der seropositiven zu den der seronegativen Proben waren im Durchschnitt nur minimal.

Das T-Zellwachstum TLA stimulierter Proben zeigen die nächsten beiden Abbildungen. Wie aus Abb.5 und 6 ersichtlich, zeigen die Proben seronegativer Probanden, im Vergleich zu denen der Seropositiven, eine schwächere Proliferation. Folglich ist die durchschnittliche Proliferation in Gruppen mit einem zufällig hohen Anteil Seronegativer im Vergleich zu anderen Gruppen schwächer. Zur Vermeidung von falschen statistischen Unterschieden zwischen den Patientengruppen C1-C4 und der Kontrolle C5, sind alle seronegativen Proben in folgender Abbildung nicht berücksichtigt worden.

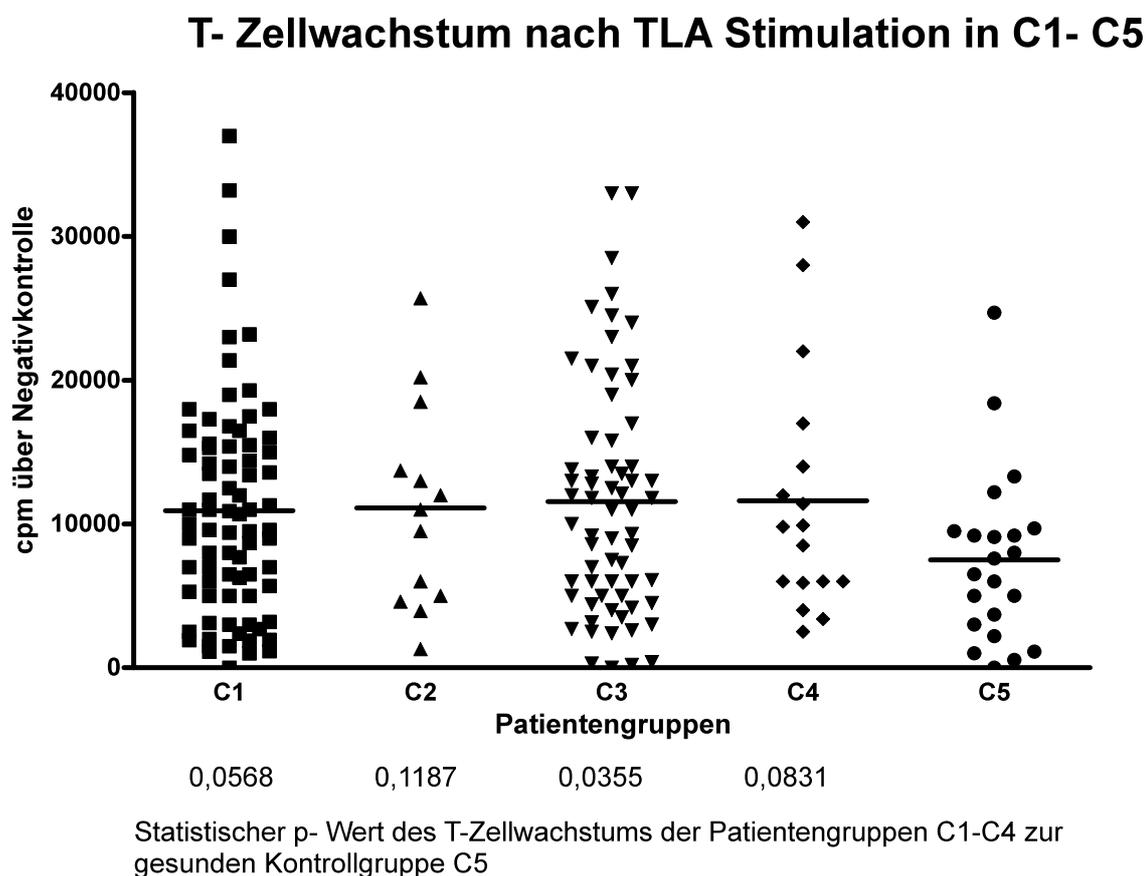


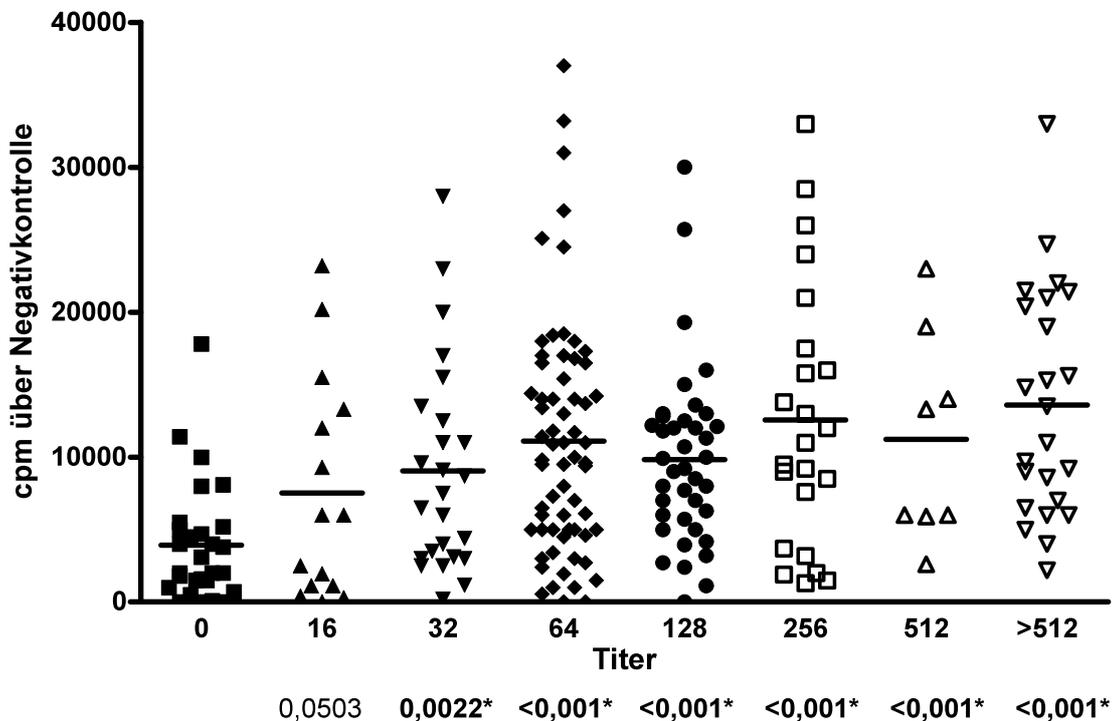
Abb. 9: T- Zellwachstum nach TLA Stimulation am Tag fünf

Es wurden 1×10^5 PBL mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und 5 Tage später mit ^3H -Thymidin markiert. Weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden zu den

Proben der psychisch gesunden Kontrollgruppe C5 wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht.
 Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Das durchschnittliche Wachstum der Proben der Patientengruppen unterscheidet sich nicht wesentlich voneinander. Ein stärkeres Wachstum der Patientenproben im Vergleich zu den Proben der Kontrollgruppe ist ebenfalls nicht festzustellen. Die Darstellung der Proliferationsdaten auf Basis des Toxoplasmen-Titers ist, unter Einbeziehung seronegativen Proben, in der folgenden Graphik wiedergegeben:

T- Zellwachstum nach TLA Stimulation bei T.g.- Antikörper seronegativen und seropositiven Proben



Statistischer p- Wert des T-Zell Wachstum seropositiver Proben im Vergleich zu seronegativen Proben
 * statistisch signifikanter Unterschied

Abb.10: T- Zellwachstum nach TLA Stimulation am Tag d5

Es wurden 1×10^5 PBL mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert und 5 Tage später mit ^3H -Thymidin markiert. Weitere 24 Stunden später wurden die Zellen bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde das Lymphozytenwachstum szintigraphisch im β -Counter gemessen. Das durchschnittliche T- Zellwachstum nahm mit steigendem Titer zu. Ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu seronegativen Proben war ab einem Titer größer 16 nachweisbar. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Ein Vergleich des Wachstums der Zellen seropositiver und seronegativer Proben zeigt eine stärkere Proliferation zugunsten der Seropositiven. Dieser Unterschied ist umso größer je höher der Toxoplasmen Titer ist. Ein statistisch signifikanter Unterschied im Wachstumsverhalten im Vergleich zu Seronegativen ist ab einem Titer von 32 nachweisbar.

3.3 Cytokin Sekretion nach Stimulation mit TLA

Die $\text{IFN-}\gamma$ vermittelte Aktivierung von Makrophagen ist einer der wichtigsten antiparasitären Mechanismen bei der Kontrolle einer Infektion mit *T. gondii*. Die größte Menge $\text{IFN-}\gamma$ wird dabei von CD4^+ T-Lymphozyten, die zu $\text{T}_{\text{H}1}$ Zellen differenzieren, produziert. Zur Differenzierung einer $\text{T}_{\text{H}1}$ - von einer $\text{T}_{\text{H}2}$ -Antwort wurde neben $\text{IFN-}\gamma$ das von $\text{T}_{\text{H}2}$ Zellen produzierte IL-5 aus Überständen von PBL, die zuvor mit TLA stimuliert worden waren, bestimmt. Die nächste Abbildung zeigt am Beispiel der bereits in den Wachstumstests gezeigten Proben der Probanden C-1-81 und C-5-200 die Cytokinproduktion.

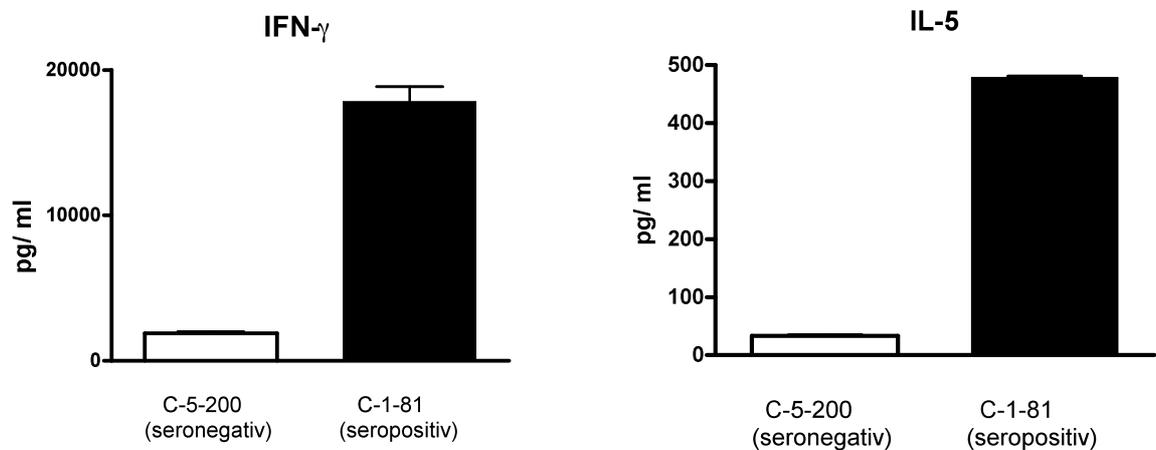


Abb. 11: Cytokinproduktion eines seropositiven und -negativen Probanden nach TLA Stimulation

1×10^5 PBL wurden mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert. Die Überstände wurden am achten Tag nach Stimulation entnommen und bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde die IFN- γ und IL-5 Produktion mittels ELISA bestimmt. Der seropositive Proband zeigt eine deutlich stärkere IFN- γ Produktion als der seronegative Proband. Die IL-5 Produktion beider Proben ist mit deutlich geringer als die IFN- γ Produktion, beim Seropositiven Probanden jedoch auch hier deutlich stärker. Dargestellt sind Mittelwerte aus Zweifachbestimmung mit Standardabweichung.

Die IFN- γ Produktion von Proben psychiatrischer Patienten im Vergleich zu denen von nicht psychiatrischen Probanden ist in Abb. 12 dargestellt. Da Proben von seronegativen Probanden eine schwächere Sekretion von IFN- γ und IL-5 zeigen, würden Patientengruppen, die Probanden mit einem großen Anteil von Seronegativen beinhalten, eine insgesamt schwächere Produktion zeigen und somit falsch signifikante Unterschiede erzeugen. Daher sind alle seronegativen Probanden in der nachfolgenden Abbildung nicht berücksichtigt worden.

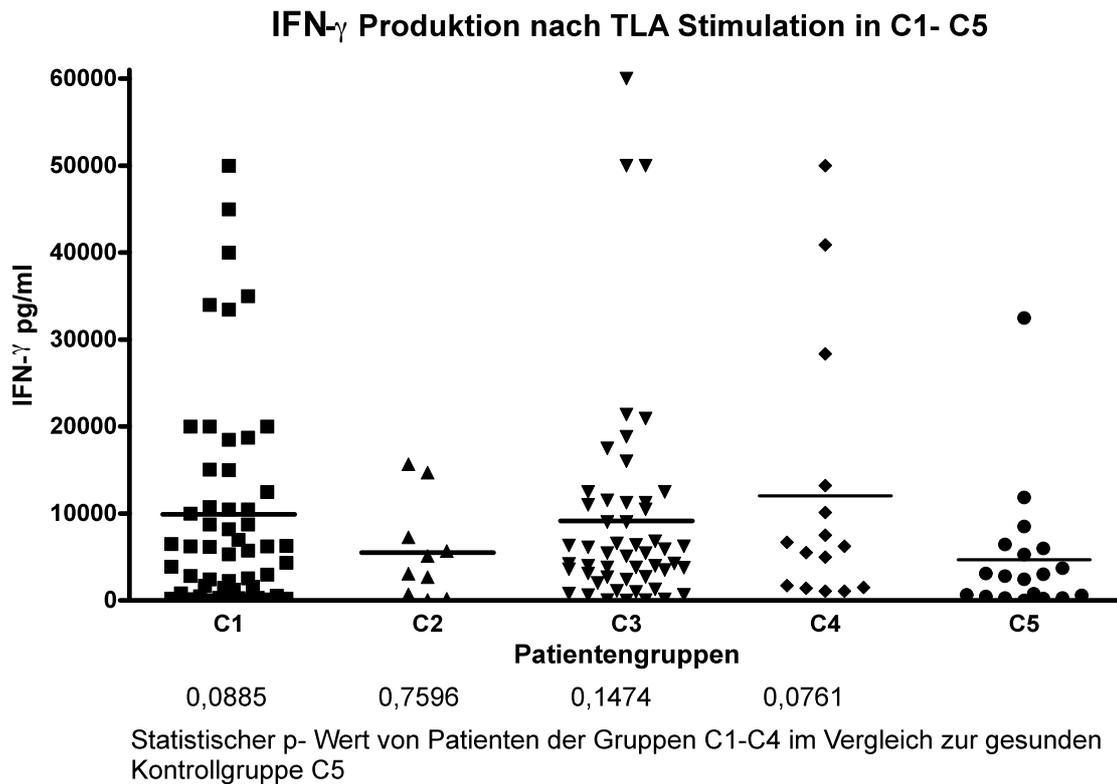


Abb. 12: IFN- γ Produktion nach TLA Stimulation am Tag 8

1×10^5 PBL wurden mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert. Die Überstände wurden am achten Tag nach Stimulation entnommen und bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde die IFN- γ Produktion im ELISA bestimmt. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden zu den Proben der psychisch gesunden Kontrollgruppe C5 wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Die IFN- γ Sekretion ist in keinen Proben der Patientengruppen überdurchschnittlich stark. Ein Unterschied zu Proben nicht-psychiatrischer Patienten ist nicht nachweisbar. Die Darstellung derselben Proben nach ihrem Toxoplasmen Titer ist im Folgenden wiedergegeben:

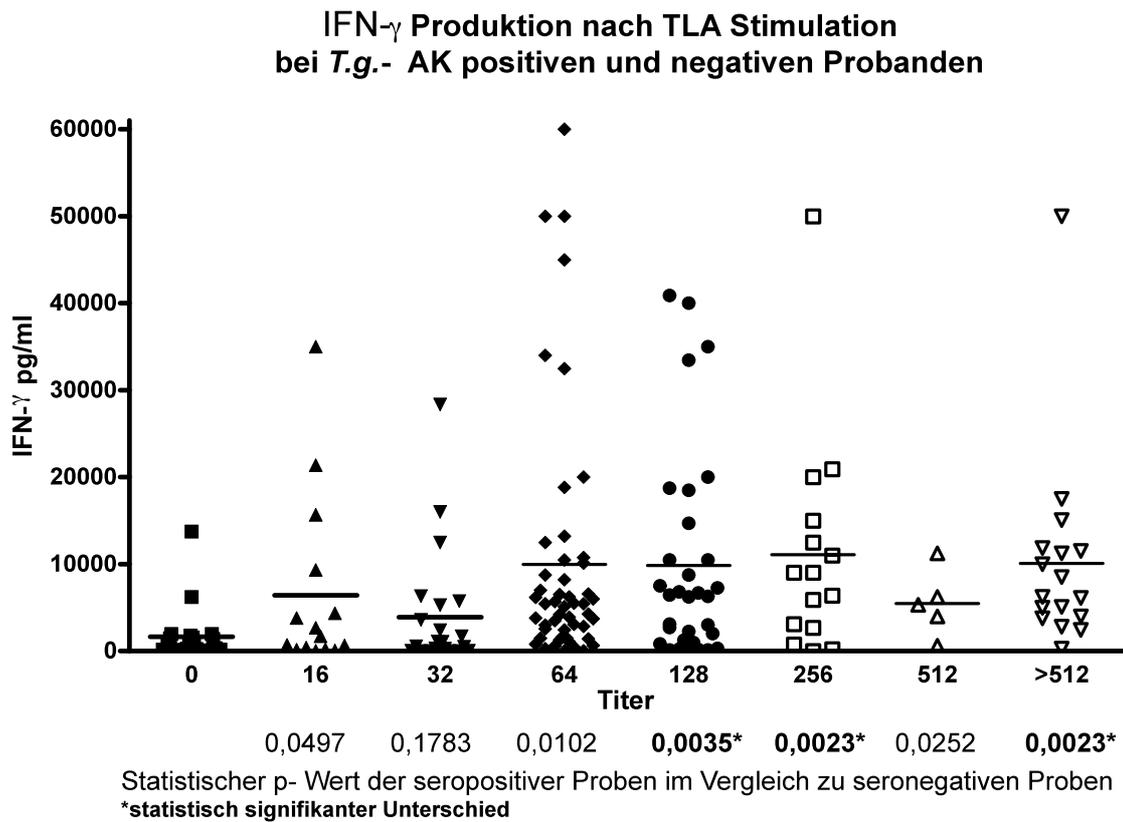


Abb. 13: IFN- γ Produktion nach TLA Stimulation am Tag 8

1×10^5 PBL wurden mit TLA ($1 \mu\text{g/ml}$) inkubiert. Die Überstände wurden am achten Tag nach Inkubation entnommen und bei -20°C eingefroren. Nach Auftauen wurde die IFN- γ Produktion im ELISA bestimmt. Die durchschnittliche IFN- γ Produktion nahm mit steigendem Titer zu. Ein statistisch signifikanter Unterschied der seropositiven Proben im Vergleich zu seronegativen Proben war ab einem Titer größer 64 (Ausnahme: 512) nachweisbar.

Der Vergleich von seropositiven mit seronegativen Proben zeigt eine durchschnittlich stärkere IFN- γ Produktion Seropositiver. Mit steigender Titerhöhe nimmt das Ausmaß der IFN- γ Sekretion zu. Ein signifikanter Unterschied ist ab einem Titer von 128 nachweisbar (Ausnahme: 512). Die semiquantitative Darstellung der Daten veranschaulicht dies noch eindrucksvoller (Abb.14):

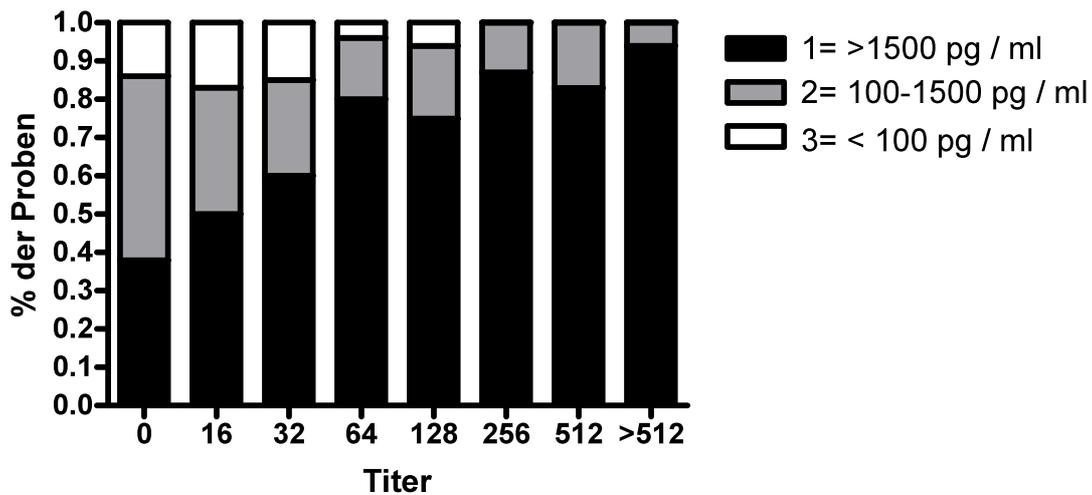


Abb. 14: Semiquantitative Darstellung der IFN- γ Produktion am Tag 8

Die IFN- γ Produktion der Proben wurde eingeteilt in Kategorien von 1-3. 1 entspricht mit einer Produktion >1500 pg/ml einer starken, 2 mit Werten zwischen 100 und 1500 pg/ml einer mäßigen und 3 mit einer Sekretion < 100pg/ml einer schwachen Produktion.

Dargestellt ist der prozentuale Anteil der Bewertungen 1-3 in den jeweiligen Titerstufen.

Die schwarzen Anteile der Balken, die eine starke Sekretion anzeigen nehmen mit steigendem Titer von links nach rechts zu. Bei einem Titer >512 zeigen 90% der Proben eine starke IFN- γ Produktion. Die weißen Anteile der Balken, die eine schwache Produktion anzeigen nehmen mit steigendem Titer ab und sind ab einem Titer von 256 nicht mehr vorhanden.

3.4 FACS- Analyse zur Charakterisierung von Oberflächen-Antigenen und intrazellulären Cytokinen peripherer Blutlymphozyten

Eine genauere Untersuchung der zellulären Immunreaktion wurde mit dem Fluoreszenzaktivierten Zellscanner (FACS) möglich. Dieser ermöglichte durch Verwendung hochaffiner fluoreszenzmarkierter Antikörper die Bestimmung der

an der Immunreaktion beteiligten Zellen. Simultan zur Markierung der Oberflächenantigene CD4 und CD69 erfolgte die Markierung intrazellulärer Zytokine, IFN- γ und das von T_{H2} Zellen produzierte IL-4. CD69 ist ein Antigen, das von stimulierten Zellen exprimiert wird. So gelingt es die an der Immunreaktion beteiligten Zellen genau zu identifizieren. Vor der Stimulation der Zellen mit TLA, erfolgte auch hier zunächst die Positivkontrolle durch Stimulation mit einem starken Antigen (SEB) um die Funktionsfähigkeit der Zellen zu testen. Insgesamt wurden 102 Proben im Durchflusszytometer untersucht. Schizoaffektive Probanden (C2) sind mit diesem Verfahren nicht untersucht worden. Die zusammenfassende Darstellung SEB stimulierter Proben zeigen nachfolgende Abbildungen. Zunächst werden Proben psychiatrischer mit denen nicht psychiatrischer Patienten verglichen, anschließend Proben Seropositiver mit denen Seronegativer.

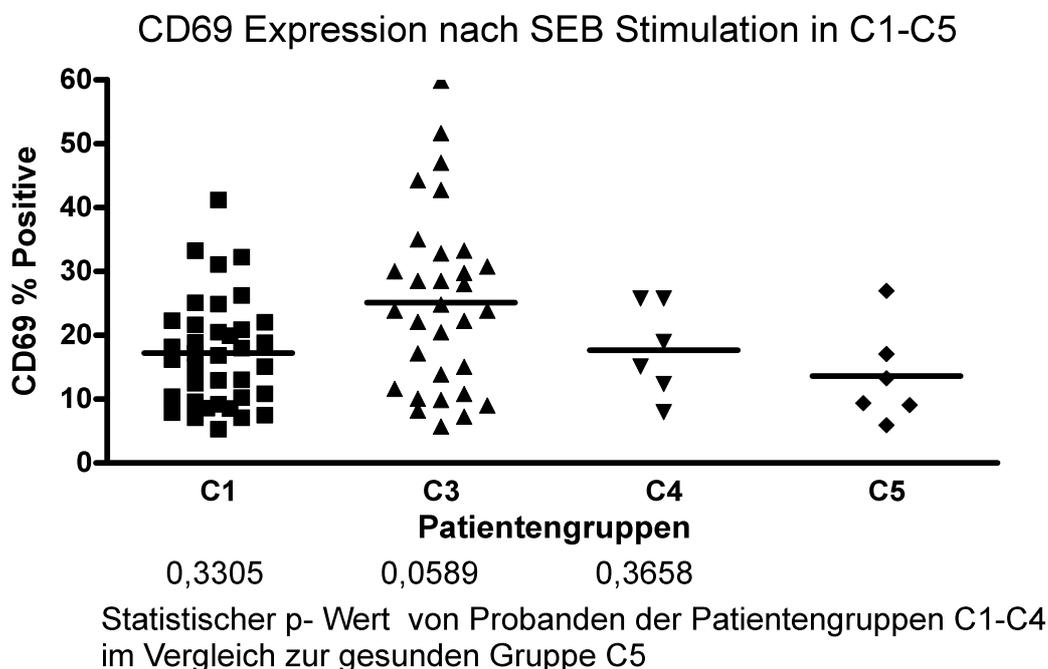


Abb. 15: CD69 Expression nach SEB Stimulation bei Probanden der Gruppen C1-C5
 Es wurde 0,5 ml heparinisiertes Vollblut mit SEB (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung

der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen das Oberflächenantigen CD69 erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung der statistischen Unterschiede zur Kontrollgruppe wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

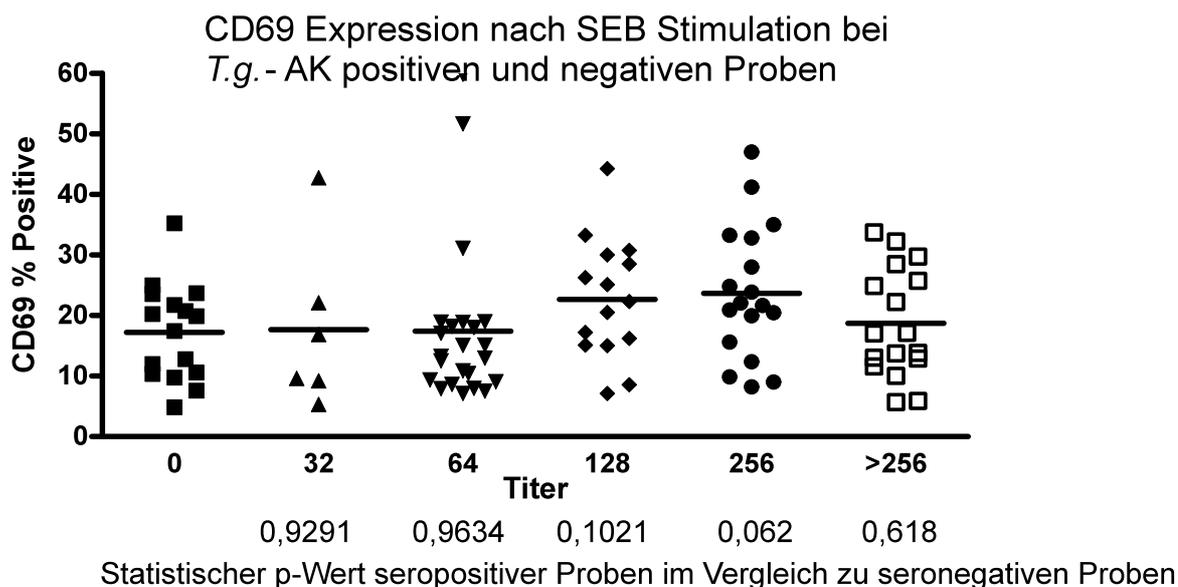


Abb. 16: CD69 Expression nach SEB Stimulation bei seronegativen und seropositiven Probanden

Die Ergebnisse der Proben, die zuvor nach ihrer Gruppenzugehörigkeit gezeigt worden sind, sind nun nach ihrem Titer wiedergegeben. Unter den Titerstufen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden der seropositiven zu den seronegativen Proben wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

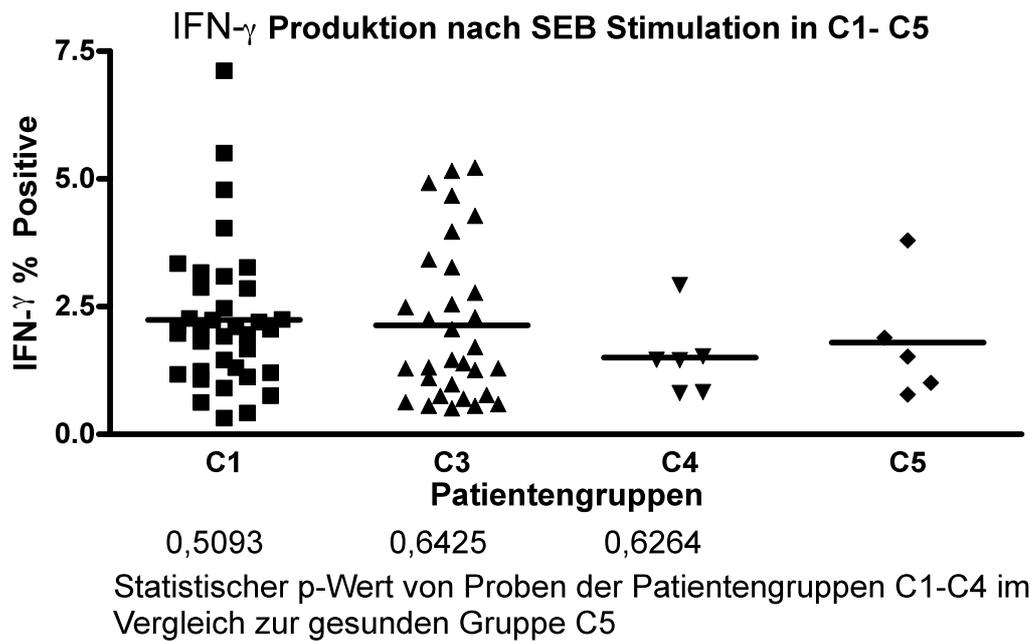


Abb. 17: IFN- γ Produktion nach SEB Stimulation bei Probanden in den Gruppen C1-C5

Es wurde 0,5 ml heparinisertes Vollblut mit SEB (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen intrazelluläres IFN- γ erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden von Proben der psychiatrischen Patienten zu Proben der Kontrollgruppe wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

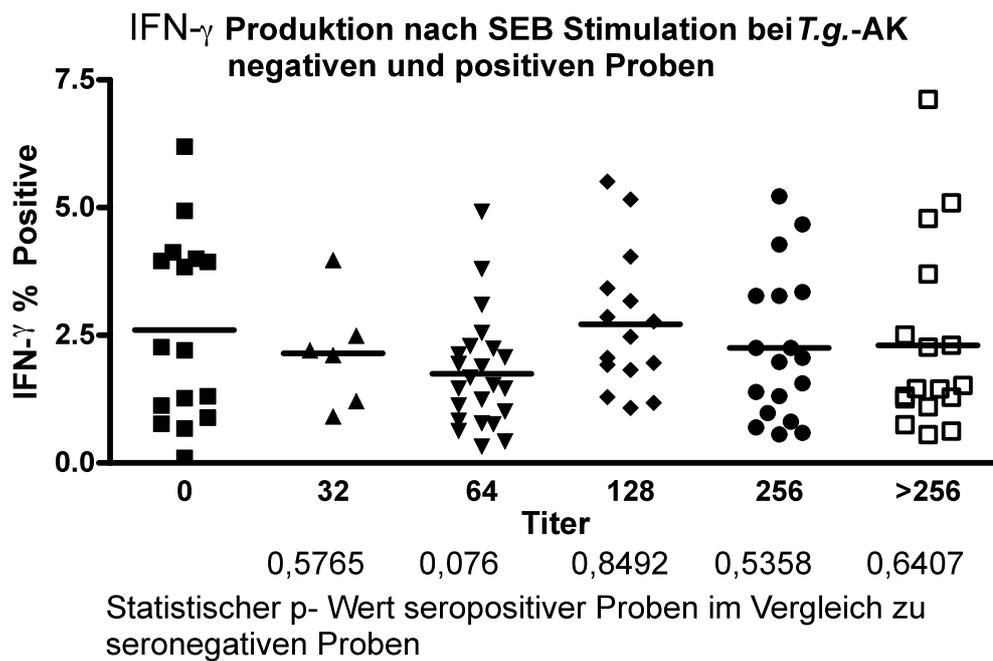
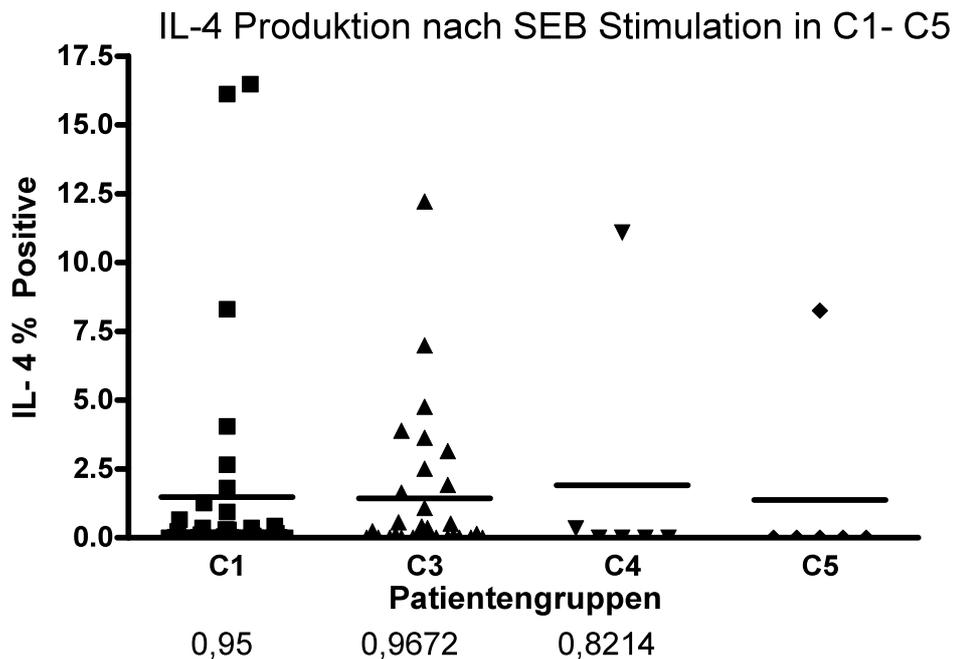


Abb. 18: IFN- γ Produktion nach SEB Stimulation bei seropositiven und –negativen Probanden

Dargestellt ist die IFN- γ Produktion Toxoplasmen Antikörper negativer und positiver Probanden.

Unter den Titerstufen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden der seropositiven zu den seronegativen Proben wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.



Statistischer p- Wert von Proben aus den Patientengruppen C1-C4 im Vergleich zur gesunden Gruppe C5

Abb. 19: IL-4 Produktion nach SEB Stimulation bei seronegativen und seropositiven Probanden

Es wurde 0,5 ml heparinisiertes Vollblut mit SEB (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen intrazelluläres IL-4 erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden von Proben psychiatrischer Patienten zu Proben der gesunden Kontrollgruppe wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

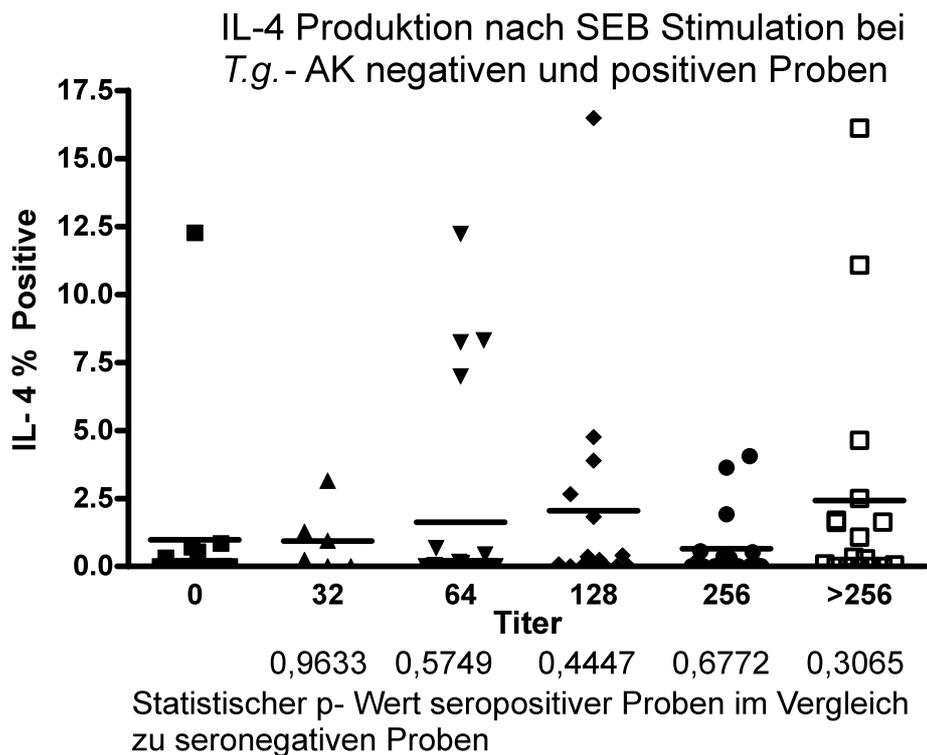


Abb. 20: IL-4 Produktion nach SEB Stimulation bei seropositiven und –negativen Probanden

Dargestellt ist die IL-4 Produktion von Proben Toxoplasmen Antikörper negativer und positiver Probanden. Unter den Titerstufen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden der Proben seropositiver zu den Proben seronegativer Probanden wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Nach Stimulation mit SEB zeigten die Lymphozyten eine durchschnittlich starke CD69 Expression und Cytokinproduktion. Der statistische p-Wert der Proben Seropositiver zu denen der Seronegativen und der Proben der Patientengruppen zu Proben der Kontrollegruppe belegte, dass weder psychiatrische Erkrankungen noch eine Infektion mit *T. gondii*, einen Einfluß auf die Aktivität von Lymphozyten haben. Nachdem die Positivkontrolle erbracht worden war, erfolgte die Stimulation mit TLA. Die nächsten beiden Abbildungen zeigen die CD69 Expression nach TLA Stimulation. Zunächst sind die Daten nach der Gruppenzugehörigkeit (seronegative Probanden ausgenommen), weiter unten nach dem Toxoplasmen Titer wiedergegeben.

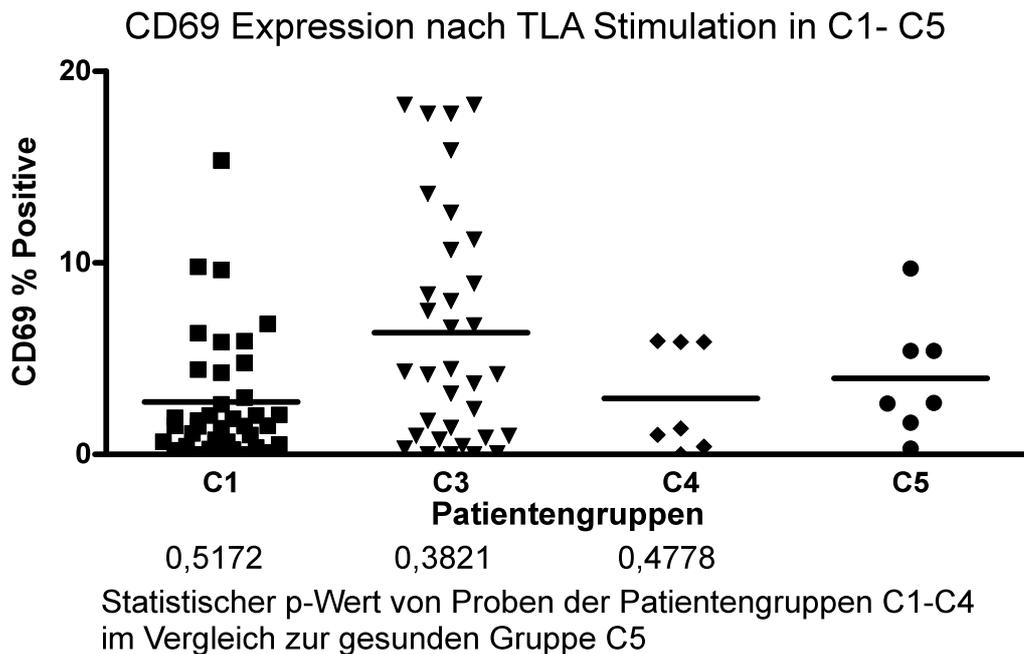


Abb. 21: **CD69 Expression nach TLA Stimulation in den Gruppen C1-C5**

Es wurde 0,5 ml heparinisiertes Vollblut mit TLA (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen das Oberflächenantigen CD69 erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden von Proben psychiatrischer Patienten zu den Proben der gesunden Kontrollgruppe wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied in der CD69 Expression besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

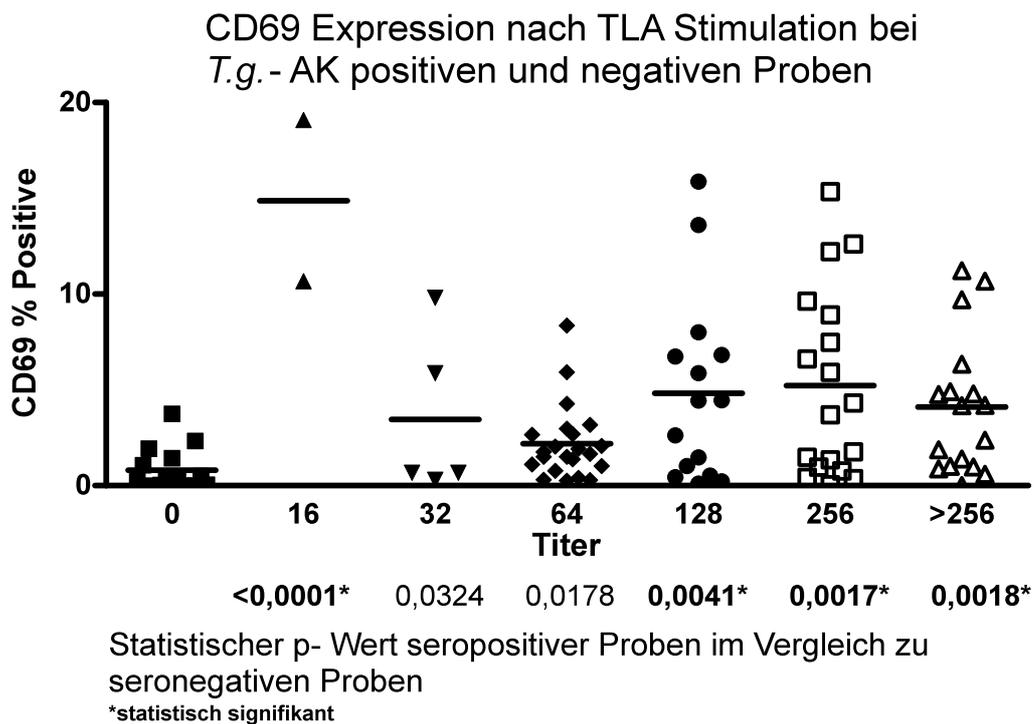


Abb. 21: CD69 Expression nach TLA Stimulation in den Gruppen C1-C5

Es wurde 0,5 ml heparinisertes Vollblut mit TLA (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen das Oberflächenantigen CD69 erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Die durchschnittliche CD69 Expression seropositiver Probanden ist in allen Titerstufen stärker als die der Seronegativen. Unter den Titerstufen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden der Proben seropositiver zu den Proben seronegativer Probanden wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht bei einem Titer von 16 und Titerstufen >64. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant

Die prozentuale CD69 Expression der Zellen der psychiatrischen Patienten ist im Durchschnitt mit der von Zellen nicht-psychiatrischer Patienten zu vergleichen. Die Betrachtung der Daten unter Berücksichtigung des Toxoplasmen Titers jedoch, zeigt eine stärkere Aktivierung der Zellen seropositiver Probanden. Ein signifikanter Unterschied zu den Proben Seronegativer ist bei einem Titer von 16 und bei Titerstufen größer 64 nachweisbar.

Die Messung der intrazellulären IFN- γ Menge zeigte bei Proben von psychiatrischen Patienten ebenfalls keine stärkere Produktion im Vergleich zu Proben der gesunden Kontrollgruppe (Abb.22). Wie in der CD69 Expression war auch hier die stärkere Immunantwort bei Proben Seropositiver zu sehen. Eine signifikanter Unterschied besteht ab einem Titer von 256 (Abb.23).

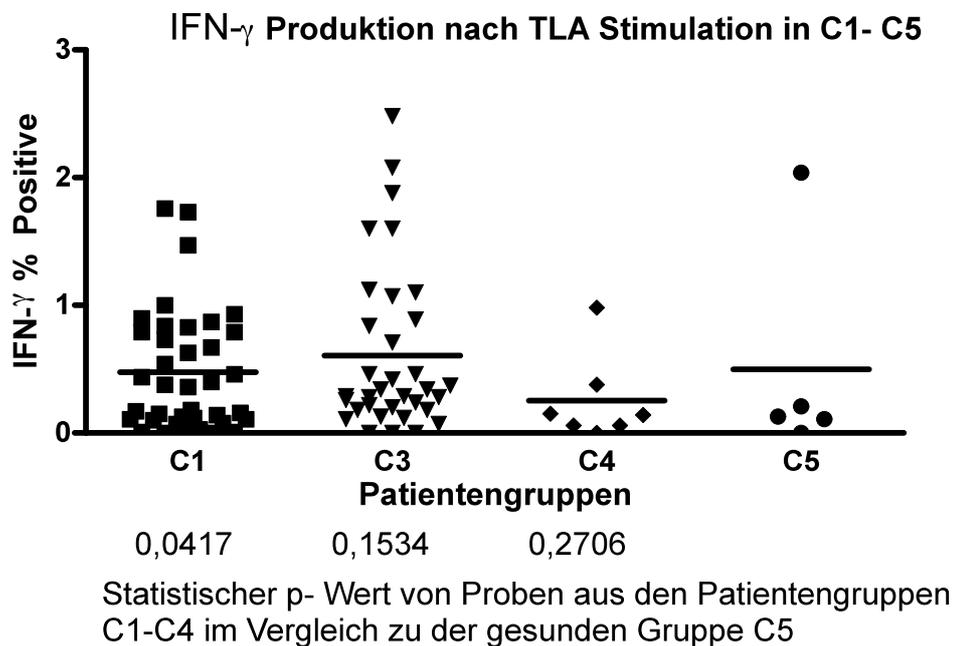


Abb. 23: IFN- γ Produktion nach TLA Stimulation in den Gruppen C1-C5

Es wurde 0,5 ml heparinisertes Vollblut mit SEB (1 μ g/ml) 2 Stunden bei 37°C inkubiert. Anschließend wurde Brefeldin A (BFA), ein Sekretionsinhibitor dazugegeben und weitere 4 Stunden inkubiert. Der Behandlung mit einer Lyse Lösung zur Lysierung der Erythrozyten folgte die Zugabe einer Permeabilisierungslösung. Die anschließende 30 minütige Inkubation mit fluoreszierenden Antikörpern gegen intrazelluläres IFN- γ erfolgte in einem abgedunkelten Raum. Unter den Patientengruppen ist die Berechnung von statistischen Unterschieden von Proben psychiatrischer Patienten zu Proben der gesunden Kontrollgruppe wiedergegeben. Ein signifikanter Unterschied besteht nicht. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

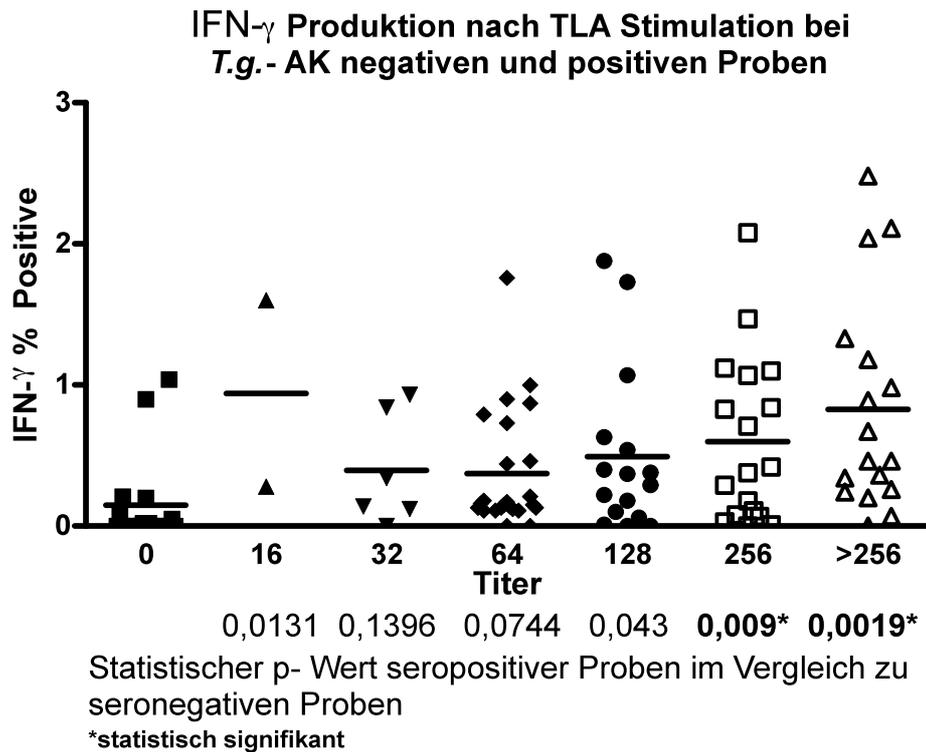


Abb. 24: IFN- γ Produktion nach TLA Stimulation seronegativer und –positiver Proben

Die Ergebnisse der Proben, die zuvor nach ihrer Gruppenzugehörigkeit gezeigt worden sind, sind hier nach ihrem Titer wiedergeben. Die durchschnittliche IFN- γ Produktion ist bei Proben Seropositiver stärker. Der Unterschied zu Proben seronegativer Probanden ist ab einem Titer von 256 signifikant. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Die Messung der IL-4 Produktion erfolgte zur Differenzierung von T_{H1} - (IFN- γ) und T_{H2} -Antwort (IL-4). Die IL-4 Produktionen zeigten sowohl beim Vergleich von Proben psychiatrischer und nicht- psychiatrischer Probanden (Abb.25) als auch beim Vergleich von Proben seropositiver und seronegativer Probanden (Abb.26) keine signifikanten Unterschiede.

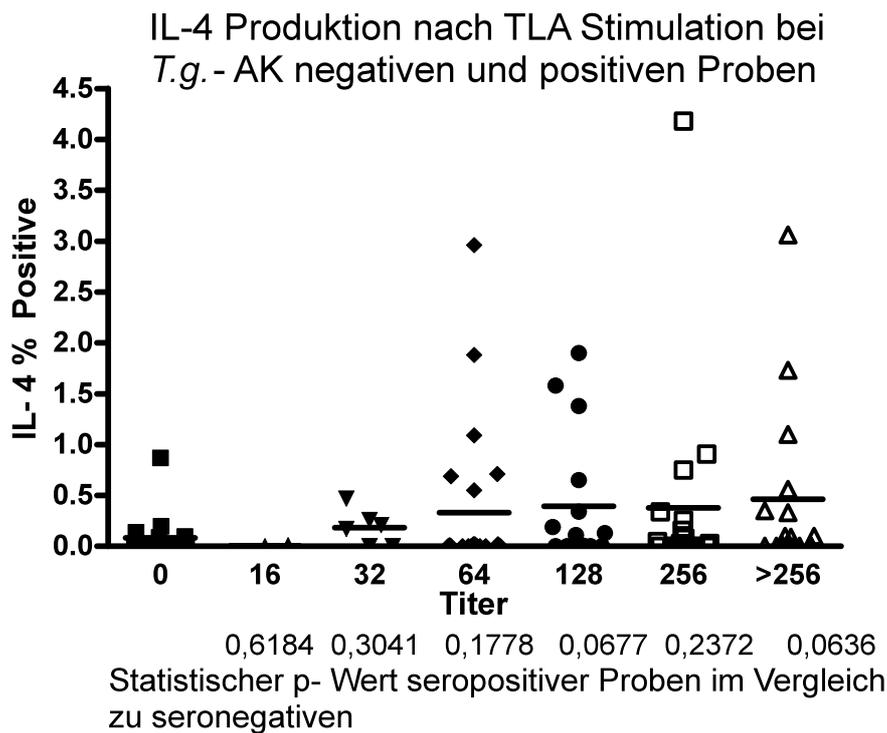


Abb. 26: IL-4 Produktion nach TLA Stimulation seronegativer und –positiver Proben

Die Ergebnisse der Proben, die zuvor nach ihrer Gruppenzugehörigkeit gezeigt worden sind, sind hier nach ihrem Titer wiedergeben. Eine statistische Berechnung von Proben seropositiver Probanden zu den Proben seronegativer Probanden ergab keine signifikanten Unterschiede. Ein Unterschied von $p = < 0,01$ ist statistisch signifikant.

Aus den Resultaten der durchgeführten Testverfahren kann keine immunologische Besonderheit psychiatrischer Patienten im Sinne einer stärkeren Auseinandersetzung des Immunsystems mit Toxoplasmen Antigenen im Vergleich zu psychiatrisch gesunden Probanden festgestellt werden. Die *in vitro* Stimulation peripherer Blutlymphozyten mit TLA rief lediglich bei Probanden, die bereits Toxoplasmen infiziert waren, eine stärkere Immunreaktion hervor.

4 Diskussion

Auf der Suche nach ätiopathogenetischen Befunden psychiatrischer Erkrankungen wurden zahlreiche somatische Funktionen, insbesondere des Stoffwechsels, untersucht. Erst nach Einführung neuroleptischer und antidepressiver Medikamente in die Therapie der Schizophrenie bzw. der Depression und die nähere Untersuchung ihrer Wirkungsweisen, ergaben sich Einblicke in Neurotransmitter- Funktionen. Die Dopamin Hypothese entstand durch die Erkenntnis, dass alle Neuroleptika über die Blockade postsynaptischer Dopamin-D₂-Rezeptoren ihre antipsychotische Wirksamkeit entfalten. Weitere Unterstützung erfuhr diese Hypothese durch die Beobachtung, dass es bei hochdosierter Dopamintherapie, z.B. beim M. Parkinson, zu einem gehäuften Auftreten von Psychosen kam [76]. Aus biochemischer Sicht wird heute die Überaktivität zentralnervöser, dopaminergere Strukturen im mesolimbischen System als wichtigstes Korrelat akuter schizophrener Psychosen diskutiert [75]. Als neurochemisches Korrelat depressiver Erkrankungen wird die Amindefizit-Hypothese angesehen. Studien wiesen bei depressiven Patienten im Vergleich zu Gesunden erniedrigte Konzentrationen von Noradrenalin bzw. Serotonin nach. Hauptunterstützung erfuhr diese Hypothese durch die Aufklärung des Wirkmechanismus der Antidepressiva, welche die Aminkonzentrationen im synaptischen Spalt entweder durch Wiederaufnahmehemmung von Noradrenalin und Serotonin oder durch Blockade des Abbaus der genannten Neurotransmitter erhöhen [96], [125], [126]. Auch für das typischerweise Depressionen auslösende Reserpin konnte eine Konzentrationsverringering biogener Amine im Gehirn nachgewiesen werden. Diese pharmakologischen Befunde trugen zur Kenntnis der Pathophysiologie bei, ohne allerdings deren Ätiopathogenese erklären zu können. Im Rahmen epidemiologischer Studien sind in den vergangenen Jahren immer wieder Infektionen diskutiert worden, die die Entstehung psychiatrischer Erkrankungen fördern bzw. induzieren sollen. In den Focus solcher Überlegungen ist der Erreger *T. gondii* geraten, da er in

der Lage ist über viele Jahre hinweg im zentralen Nervensystem zu persistieren und neurologische bzw. psychiatrische Symptome hervorzurufen [127], [128], [129], [130].

Diese Arbeit hat sich mit der Frage einer gesteigerten Immunreaktion bei chronischer Toxoplasmen Infektion als mögliche Ursache für die Dysregulation im Transmitter System und somit möglichen pathogenetischen Faktor schizophrener und psychiatrischer Erkrankungen, beschäftigt. In der Literatur werden insgesamt 4 verschiedenen Effektormechanismen zur Abwehr intrazellulärer Parasiten beschrieben. Dazu gehört unter anderem die Induktion der Indolamin- 2,3 dioxygenase (IDO). Erstmals konnte Pfefferkorn 1984 die IFN- γ induzierte Aktivierung von Fibroblasten und den durch die Tryptophandepletion verbundenen toxoplasmostatischen antiparasitären Effekt der IDO zeigen [131]. Vorausgegangen war 1936 die Entdeckung eines leberständigen Enzyms, der Tryptophan 2,3- dioxygenase (TDO). Dieses war in der Lage die Aminosäure Tryptophan zu Kynurenin abzubauen. 1963 isolierten dann Hayaishi et al. die Indolamin 2,3- dioxygenase. Die TDO beeinflusst die systemische, während die IDO die lokale Tryptophankonzentration reguliert. Dieses Enzym katalysiert die O₂-abhängige Umsetzung von Tryptophan zu L-N-Formylkynurenin, der erste Schritt im Abbau von Tryptophan. Der zweite Schritt zu L- Kynurenin erfolgt über eine ubiquitäre Formaminidase. Dabei wird nahezu sämtliches Tryptophan aus der Zellumgebung abgebaut. In den folgenden Jahren konnte eine IDO Induktion bei weiteren Zelltypen wie Makrophagen, Monozyten, Astrozyten und verschiedenen Tumorzelllinien gezeigt werden. Da diese Aminosäure essentiell für Toxoplasmen ist, wird durch die Tryptophandepletion eine Hemmung des Toxoplasmenwachstums erreicht. Der Abbau der Aminosäure korreliert dabei direkt mit der Hemmung des Toxoplasmenwachstums. Durch Supplementierung von Tryptophan kann die antiparasitäre Wirkung wieder aufgehoben werden. Dabei scheint die Wirkung alleine auf der Verarmung von Tryptophan zu beruhen, während Abbauprodukte, die im weiteren entstehen keinen Einfluß auf die Proliferation der Parasiten

ausüben. Dabei ist es unerheblich ob es sich um intrazelluläre Parasiten wie Toxoplasmen oder Chlamydien, oder extrazelluläre Bakterien wie Gruppe B Streptokokken handelt.

Dieser Effektormechanismus ist Grundlage für die Spekulation eines Zusammenhangs zwischen immunologischen Abwehrmaßnahmen und einer psychiatrische Symptome hervorrufenden Dysregulation des Neurotransmitter Systems [132]. Serotonin entsteht durch Hydroxylierung an 5'-Position und anschließender Decarboxylierung aus Tryptophan; der IDO- vermittelte Tryptophanentzug verursacht also konsekutiv auch einen Serotoninmangel. Serotoninmangel könnte, wie bereits oben erwähnt, die Entstehung von depressiven Erkrankungen begünstigen. Die Zwischenprodukte, die aus dem Tryptophanabbau entstehen, könnten für die Synthese von Dopamin verwendet werden und somit einen Dopaminüberschuß, der in der Pathophysiologie der Schizophrenie eine Rolle spielen soll, verursachen [133].

Diese Arbeit hat durch Messung humoraler und zellulärer Parameter das immunologische Abwehrverhalten von Proben psychiatrisch erkrankten Patienten mit Proben psychiatrisch gesunder Probanden verglichen. Dabei wurde insbesondere der Frage einer erhöhten Immunreaktion psychiatrischer Patienten nachgegangen.

4.1 Serologische Befunde

Eine Infektion mit Toxoplasmen stimuliert die humorale sowie die zelluläre Immunantwort. Die humorale Immunantwort erfolgt unter anderem durch B-Lymphozyten, von denen spezifische Antikörper gegen *T.gondii* gebildet werden. Obwohl ein breites Spektrum von anti- *T. gondii* Antikörpern gebildet wird, spielt die humorale Immunantwort bei der Abwehr eine untergeordnete Rolle. Die Toxoplasmen- spezifischen IgG- Antikörper erreichen nach 2-4

Monaten Maximalwerte und persistieren über viele Jahre. Die Ursache der meist lebenslang erhöhten Antikörpertiter mit Immunität ist wohl in der ständigen Auseinandersetzung zwischen Wirt und Erreger zu sehen. Bei einem intakten Immunsystem besteht eine Art Gleichgewicht zwischen den enzystierten Bradyzoiten und der körpereigenen Abwehr (IFN- γ /CD8⁺ T- Zellen): rezidivierend kommt es zur Ruptur einiger Zysten mit einer entsprechenden Reaktion der körpereigenen Abwehr und in der Folge zu Veränderungen der Oberflächenantigenexpression der Toxoplasmen. Ein Teil der bislang zu diesem Thema publizierten Studien konnten eine erhöhte Seropositivität gegen *T. gondii* bei Schizophrenen im Vergleich zu gesunden Kontrollgruppen zeigen [120], [121], [122], [134]. Diese serologischen Unterschiede konnten wir in unserer Studie nicht feststellen. Die Seroprävalenzraten in den Patientengruppen zeigten keine größeren Abweichungen untereinander und zur gesunden Kontrollgruppe. Sie variierte zwischen 37,27% in C3 und 49,63% in C1. Die Durchseuchungsquote aller untersuchten Proben betrug 44,35%. Diese Befunde sind mit seroepidemiologischen Erhebungen der Gesamtbevölkerung übereinstimmend. Die Prävalenz der Infektion mit *T. gondii* in der Gesamtbevölkerung ist altersabhängig und regional unterschiedlich. Die Infektionsrate nimmt mit dem Lebensalter zu [135]. Man geht von einer globalen Durchseuchung von etwa 30% aus [136]. Für das Gebiet der Bundesrepublik Deutschland gilt als Faustregel, dass Lebensjahre ungefähr der Durchseuchung entsprechen [137]. Es ist daher wichtig bei solchen Untersuchungen das Alter der Probanden in den Vergleichsgruppen anzupassen. In Bezug auf den Infektionsweg, ist es darüber hinaus auch sinnvoll die Probanden aus derselben geographischen Region zu rekrutieren. Probanden aus ländlichen Regionen sind beispielsweise häufiger seropositiv als solche, die in Städten leben [138], [139]. Diese beiden Kriterien sind bei der Wahl unserer Probanden berücksichtigt worden. Mögliche Ursache für die erhöhten Seroprävalenzraten der erwähnten Studien könnte eine Nichtberücksichtigung dieser Kriterien sein.

4.2 Zelluläre Immunantwort

Der Hauptabwehrmechanismus bei der Kontrolle der obligat intrazellulär lebenden Toxoplasmen erfolgt durch T-Lymphozyten. Die vorliegende Arbeit hat nun erstmals mit der Messung zellulärer Parameter einen Beitrag zur näheren Beleuchtung dieser Vorgänge bei Patienten mit psychiatrischen Erkrankungen geleistet.

4.2.1 T-Zellproliferation

Zu Beginn einer Primärinfektion mit *T. gondii* werden zunächst die unspezifischen Abwehrmechanismen der angeborenen Immunabwehr aktiviert, an der primär Dendritische Zellen, Makrophagen und infizierte Wirtszellen beteiligt sind. Diese Mechanismen begrenzen einerseits die Ausbreitung der Parasiten und leiten andererseits die Ausbildung einer spezifischen Immunantwort ein. Erst die spezifische Immunantwort ist in der Lage die Infektion zu kontrollieren. In den regionären Lymphknoten präsentieren die professionell antigenpräsentierenden Makrophagen und Dendritischen Zellen Toxoplasma Antigen und stimulieren damit T- Zellen. Die so induzierte antigenspezifische Immunantwort durch T- und B- Lymphozyten wird nach etwa fünf Tagen wirksam. Unter dem Einfluß von IL- 12 und IFN- γ wird die für die Abwehr intrazellulärer Erreger typische, sogenannte Typ 1-Antwort induziert. Die Tatsache, dass eine Behandlung mit Antikörpern gegen den CD4- Rezeptor während der Vakzination mit attenuierten Toxoplasmen nicht zur Entwicklung einer protektiven Immunität führt, unterstützt dieses Konzept ebenso wie die Erkenntnis, dass der adoptive Transfer Toxoplasma immuner CD8- Zellen in naiven Mäusen allein keinen Schutz vor einer letalen Infektion bietet [140]. In dem Lymphozyten- Wachstumstest wurde das T-Zellwachstum nach in vitro

Stimulation peripherer Blut Lymphozyten (PBL) erfasst. Zunächst erfolgte die Stimulation mit PHA, einem starken Antigen, als Vitalitätsnachweis der Lymphozyten. Die Zellen zeigten ein starkes Wachstum. Eine adäquate Reaktion auf dieses Mitogen, unabhängig vom Vorhandensein eines Toxoplasmen Titers und unabhängig von psychiatrischen Erkrankungen, ist Grundvoraussetzung für die Bewertung nachfolgender immunologischer Untersuchungen. Das durchschnittliche Wachstum der Zellen von den Patientengruppen nach Stimulation mit Toxoplasmen Lysat (TLA) zeigte keine größeren Unterschiede untereinander und insbesondere zu der gesunden Kontrollgruppe. Die Theorie der stärkeren Immunreaktion bei psychiatrischen Patienten, konnte in dieser Untersuchung nicht bestätigt werden. In der Betrachtung der Daten unter Berücksichtigung des Toxoplasmen Titers ergab sich ein stärkeres Wachstum von Zellen seropositiver Probanden. Dies ist zurückzuführen auf bestehende Immunkompetenz nach Infektion mit dem Erreger in der Vergangenheit. Ein statistisch signifikanter Unterschied im Vergleich zu seronegativen Proben ist bereits ab einem Titer von 32 nachweisbar.

4.2.2 Cytokinproduktion

Die protektive Immunantwort gegen *T. gondii* während der akuten und chronischen Phase der Infektion wird in erster Linie durch IFN- γ vermittelt. Der wichtigste Mechanismus dabei ist die Aktivierung der Makrophagen. Im Hinblick auf die spezielle Fragestellung dieser Arbeit ist außerdem von Bedeutung, dass IFN- γ die Expression der IDO, die über eine Tryptophandepletion die Dysregulation im Neurotransmittersystem verursachen soll, stimuliert. Neben CD8⁺ und CD4⁺ T-Lymphozyten sind natürliche Killerzellen, die zur unspezifischen zellulären Immunabwehr gezählt werden, für die initiale IFN- γ Produktion während der akuten Infektion zuständig. Die größte Menge IFN- γ wird jedoch von CD4⁺ T-Lymphozyten, die zu T_H1-Zellen differenzieren,

produziert. Neben IFN- γ wurde das von T_H2-Zellen produzierte IL-5 zur Differenzierung von T_H1- und T_H2- Antwort, bestimmt. Die Entwicklung einer IFN- γ vermittelten Typ 1 Antwort ist essentiell für die Kontrolle der intrazellulären Vermehrung von Toxoplasmen. Um jedoch einer Immunpathologie vorzubeugen, ist es notwendig, die Cytokinantwort zu regulieren. Antagonisten einer Typ 1- Antwort sind zum Beispiel die von T_H2-Zellen Lymphozyten sezernierten Cytokine IL-4, IL-5, IL-10. Die Notwendigkeit der Regulation konnte in Cytokin- defizienten Mäusen gezeigt werden. IL-10 defiziente Mäuse sterben während der akuten Phase einer Infektion mit avirulenten Toxoplasmen an den Folgen einer Cytokin vermittelten Immunpathologie [141]. In der chronischen Phase der Infektion sind Typ 1 Cytokine ebenfalls entscheidend an der Aufrechterhaltung der Immunantwort beteiligt. In chronisch infizierten Mäusen führte die Neutralisation von IL-12 und IFN- γ zur Reaktivierung der Zysten und zur Entwicklung einer letalen Toxoplasma- Enzephalitis [140], [142]. In den Messungen zeigten die Proben seropositiver Probanden eine starke IFN- γ Produktion. Die IL-5 Produktion war ebenfalls bei seropositiven Proben stärker. Die Hypothese eines überwiegend proinflammatorischen Immunsystems mit verstärkter IFN- γ Produktion bei psychiatrischen Patienten konnte hingegen nicht bestätigt werden. Die durchschnittliche IFN- γ Produktion der T- Zellen von Proben der psychiatrischen Patienten untereinander und insbesondere im Vergleich zu den Proben der gesunden Kontrollgruppe zeigte keine auffallenden Unterschiede. Eine starke IFN- γ Produktion war nur bei Proben seropositiver Probanden zu verzeichnen. Je höher der Titer desto stärker war die IFN- γ Produktion, der Unterschied zu Proben seronegativer Probanden war ab einem Titer 128 signifikant.

4.2.3 Charakterisierung von Oberflächenantigenen und intrazellulärer Cytokine peripherer Blutlymphozyten im Fluoreszenzaktivierter Zellscanner (FACS)

Eine weitere Untersuchung immunologischer Vorgänge erfolgte mit der Durchflusszytometrie. Hierbei gelang ein genauer Nachweis der an der Immunreaktion beteiligten Zellen, zu einem sehr frühen Zeitpunkt. Die simultane Markierung des Aktivierungsantigens CD69 auf der Oberflächen und der Cytokine, IFN- γ und IL-4, intrazellulär machte die genaue Identifizierung der an der Immunreaktion beteiligten Zellen möglich. Die erforderliche Positivkontrolle zum Nachweis der Funktionsfähigkeit der Lymphozyten erfolgte durch Stimulation mit SEB. Nach Stimulation mit SEB konnte eine Aktivierung der Zellen mit starker CD69 Expression sowie starker IFN- γ Produktion gezeigt werden. Die Zugehörigkeit in eine der Patientengruppen oder das Vorhandensein eines Toxoplasmen Titers spielte dabei keine Rolle. Nach Stimulation der Proben mit Toxoplasmen Lysat ergibt sich die gleiche Befundkonstellation wie in den zuvor gezeigten Untersuchungen. Proben seropositiver Probanden zeigten eine stärkere CD69 Expression und IFN- γ Produktion, je höher der Titer desto stärker auch hier die Immunreaktion. Eine signifikanter Unterschied Proben *T. gondii*- Antikörper positiver Probanden ergab sich für die CD69 Expression ab einem Titer von 128, für die IFN- γ Produktion ab einem Titer von 256. In Konkordanz zu den bisherigen Befunden kann auch hier bei Proben psychiatrischer Patienten im Vergleich zu Proben psychisch gesunder Probanden kein Unterschied hinsichtlich einer stärkeren Immunreaktion festgestellt werden.

Zusammenfassend ergibt sich aus unseren Befunden kein Anhalt für eine Überstimulation des Immunsystems psychiatrisch erkrankter Patienten im Vergleich zu einer gesunden Kontrollgruppe. Ein proinflammatorischer Immunstatus, der über eine Modulation des Neurotransmitter Systems psychotische oder affektpsychotische Symptome hervorrufen soll, konnte

sowohl in serologischen als auch in zellulären Untersuchungen nicht nachgewiesen werden. Maßgeblich für eine starke Immunreaktion war das Vorhandensein eines Toxoplasmen – Titers, also eine stattgehabte Infektion.

In den letzten Jahren sind viele Studien durchgeführt worden, die den Zusammenhang zwischen einer Toxoplasmen- Infektion und psychiatrischen Symptomen untersucht haben. Einige dieser Studien konnten signifikant höhere *T.g.*- AK- Titer bei psychiatrischen Patienten zeigen [120], [121], [122], [134]. Diese sind jedoch kritisch zu betrachten. Angesichts der Tatsache, dass eine Toxoplasmose eine häufig vorkommende Infektion ist (rund 1/3 der Weltbevölkerung ist infiziert!), können dies Ergebnisse auch nur Zufallsbefunde sein. Nimmt man diese Studien jedoch ernst, ist zunächst die Frage der Kausalität zu klären. Ist die Infektion das Resultat einer Immunsuppression, wie sie beispielsweise nach langjähriger Neuroleptikamedikation vorkommt [132], [143], [144] oder gibt es tatsächlich einen ätiopathogenetischen Zusammenhang im Sinne von psychiatrische Erkrankungen hervorrufender zerebraler Toxoplasmose? Um diese Frage mit ausreichender Sicherheit beantworten zu können, muß der zeitliche Zusammenhang des Erwerbs der Infektion bzw. der Reaktivierung zum Auftreten psychiatrische Symptome bekannt sein. Da eine Toxoplasmen- Infektion jedoch in der Regel asymptomatisch verläuft, ist dies aus praktischen Gründen nicht möglich. Möglichkeiten sich dem ungefähren Infektionszeitpunkt zu nähern, bestehen beispielsweise bei serieller Bestimmung von Antikörper Titern. Hohe Titer mit Fluktuationen im Verlauf könnten Hinweise für eine kurz zuvor erworbene oder reaktivierte Infektion sein. Weitere Hinweise könnte jedoch auch die IgG- Avidität bei Erstinfizierten liefern. Avidität ist ein Maß für die Bindungsstärke zwischen Antikörper und Antigen. Im akuten Stadium einer Primärinfektion zeigen die IgG- Antikörper eine schwächere Bindung zum Antigen als in der chronischen Phase und besitzen somit eine niedrige Avidität. Hauptkritikpunkt

an den Studien, die eine erhöhte Seroprävalenzrate psychiatrischer Patienten im Vergleich zu psychiatrisch gesunden Probanden zeigen konnten, ist, dass bei Schizophrenen aufgrund verschiedener Ursachen (langjähriger Neuroleptikatherapie, stärkere Exposition durch extrovertierten Lebensstil, häufige Krankenhausaufenthalte) möglicherweise eine Immunsuppression mit größerer Empfänglichkeit für opportunistische Erkrankung vorliegt. Um möglichst gleiche Verhältnisse / Voraussetzungen zwischen Patienten- und Kontrollgruppe herzustellen, sind daher in den letzten Jahren zunehmend Untersuchungen mit Patienten durchgeführt worden, die die erste Episode ihrer Erkrankung durchmachten. In den bisher vorliegenden Studien mit Ersterkrankten Patienten ergeben sich ebenfalls sehr unterschiedliche Ergebnisse. Neben erhöhten Serofrequenzraten gegen *T. gondii* zeigen einige Studien eine erhöhte Serointensität erkrankter Patienten [133]. Serointensität bedeutet, dass schizophrene *T. gondii* – Antikörper positive im Vergleich zu gesunden *T. gondii* – Antikörper positive signifikant höhere Titerstufen aufwiesen. Von Mikrobiologen werden diese Studien wegen der zum Teil nicht ganz korrekten Durchführung bzw. Bewertung der Toxoplasmen- Serologie kritisiert. Auch hier könnte eine serielle Bestimmung des Titers zur besseren Zuordnung der Befunde hilfreich sein. Außerdem ist zu berücksichtigen, dass hohe Toxoplasmen Titer nicht zwangsläufig eine aktive oder reaktivierte Infektion anzeigen müssen. Sie können auch Ausdruck einer anlage bedingten gesteigerten Immunantwort sein [145], [146]. Zum Ausschluß einer solchen unspezifischen Antikörperproduktion, könnte die Bestimmung von Antikörper Titern gegen andere Erreger hilfreich sein.

Zusammenfassend ist zu sagen, dass der Zusammenhang zwischen Toxoplasmose und Psychosen sehr kontrovers erörtert werden muss. Möglicherweise spielt derIDO- vermittelte Tryptophanentzug mit konsekutiver Dysregulation im Neurotransmitter- System bei einem Teil der Erkrankten mit entsprechender Vulnerabilität eine Rolle. Wie bereits erwähnt ist die Studienlage derzeit jedoch sehr heterogen. Im Vergleich zu den anderen Studien [120],

[121], [122], [134], [147], die durchschnittlich ca. 30-40 Probanden umfassen, umfasst die vorliegende Arbeit eine erheblich größere Anzahl an Probanden. Außerdem hat hier mit der Untersuchung zellulärer Parameter eine wesentlich detailliertere Untersuchung stattgefunden. Angesichts der Tatsache, dass psychiatrische Erkrankungen und insbesondere die Schizophrenie schwere Verläufe zeigen können und es trotz intensiver Forschungsbemühungen noch immer keine Kausaltherapie gibt, sollten die Studien, die eine erhöhte Serofrequenzrate bzw. -intensität zeigen, bis zum endgültig negativen Beweis, Beachtung finden. Als Konsequenz aus all diesen Beobachtungen werden derzeit Studien geplant, in denen Patienten mit einer Schizophrenie mit Antibiotika behandelt werden, die das Wachstum von Toxoplasmen inhibieren. Als weiterer Aspekt ergibt sich aus dieser Arbeit möglicherweise auch eine neue Option in der Diagnostik einer Toxoplasmen- Infektion. Bei der bekannten hohen Durchseuchungsrate in der Bevölkerung und mit Zunahme der Häufigkeit immunsuppressiver Erkrankungen wie AIDS und Karzinomerkrankungen sowie bei induzierter Immunsuppression bei Patienten mit Organtransplantation besteht ausreichend Anlass hierzu. Wie bereits erwähnt nehmen zelluläre Parameter trotz ihrer so wichtigen Funktion bei der Immunabwehr einer Toxoplasmen- Infektion, eine eher untergeordnete Rolle in der Diagnostik ein. Großer Vorteil der Messungen in der Durchflußzytometrie ist, dass die Befunde schnell innerhalb eines Tages vorliegen. Aufgrund der guten Korrelation der mit der Durchflußzytometrie erhobenen Befunde mit den Befunden aus dem IFT, ergeben sich außerdem Hinweise für eine gute Sensitivität dieses Verfahrens. In der Zukunft könnte hiermit möglicherweise eine neue diagnostische Methode, erstmals auf Grundlage der zellulären Immunreaktion, etabliert werden. Als antigener Stimulus könnten rekombinante Toxoplasmen- Antigene verwendet werden.

5 Zusammenfassung

Die Ursache vieler psychiatrischer Erkrankungen wie die der Schizophrenie und depressiver Erkrankungen sind trotz intensiver Forschungsbemühungen bis heute nicht endgültig geklärt. Epidemiologische Studien zeigten, dass Umweltfaktoren, wie z.B. perinatale Infektionen und Geburten in der kalten Jahreszeit mit einem erhöhten Risiko zu erkranken einhergingen. In den Fokus solcher Überlegungen gerieten unter anderem Erreger wie *T. gondii*, da sie in der Lage sind über viele Jahre im ZNS zu persistieren. Ausgangspunkt dieser Arbeit sind einige Studien, in denen gezeigt wurde, dass Patienten mit Schizophrenie häufiger *T. gondii* positiv waren. Hintergrund dieses Zusammenhangs soll eine durch antiparasitäre Abwehrmechanismen hervorgerufene Dysregulation im Neurotransmittersystem sein. Es wurden Patienten mit verschiedenen psychiatrischen Erkrankungen im Vergleich zu einer psychiatrisch gesunden Kontrollgruppe untersucht. Die serologischen Befunde zeigten keine größeren Abweichungen der Proben der verschiedenen Patientengruppen zu den Proben der gesunden Kontrollgruppe. Alle Gruppen zeigten vielmehr Durchseuchungsraten, die mit der der Gesamtbevölkerung übereinstimmen. Weiterhin wurde das Wachstum bzw. die Aktivierung peripherer Blutlymphozyten und die Zytokinproduktion (IFN- γ , IL-4, IL-5) nach Infektion mit Toxoplasmen- Lysat (TLA) gemessen. Im T- Zellwachstum ergaben sich keine größeren Unterschiede zwischen den einzelnen Patientengruppen und der gesunden Kontrollgruppe. Einen signifikanten Unterschied mit stärkerem Wachstum zeigten lediglich die Proben Seropositiver. Die aus den Überständen von stimulierten PBL gemessenen Zytokine IFN- γ (T_H1- Antwort) und IL-5 (T_H2- Antwort) zeigten ebenfalls keine wesentlichen Unterschiede zwischen den Proben psychiatrischer Patienten und psychiatrisch gesunder Probanden. Eine stärkere Zytokinproduktion konnte lediglich zugunsten von Proben seropositiver Probanden verzeichnet werden. Die Messungen in der Durchflusszytometrie ermöglichte eine simultane Markierung der Oberflächenantigene CD4 und CD69 sowie die Markierung intrazellulärer Zytokine, IFN- γ und IL-4. Auch hier konnten keine Unterschiede von Proben psychiatrischer Patienten im Vergleich zu Proben gesunder Probanden festgestellt werden. Lediglich Proben seropositiver Probanden zeigten auch hier eine stärkere Expression von CD4/ CD69 und eine stärkere Zytokinproduktion. Zusammenfassend ergaben sich in allen durchgeführten Untersuchungen keine immunologischen Besonderheiten von Proben psychiatrischer Patienten im Vergleich zu Proben der gesunden Kontrollgruppe. Eine starke Immunreaktion konnte lediglich bei Proben Seropositiver Probanden verzeichnet werden. Durch die schnelle Verfügbarkeit der Befunde in der Durchflusszytometrie bei guter Sensivität und Spezifität könnte in Zukunft anhand dieser Methode ein neues diagnostisches Verfahren etabliert werden. Bei der hohen Durchseuchungsrate in der Bevölkerung und mit Zunahme der Häufigkeit immunsuppressiver Erkrankungen besteht ausreichend Anlass hierzu.

6 Literaturverzeichnis

1. Mortensen PB, Pedersen CB, Westergaard T, Wohlfahrt J, Ewald H, Mors O, Andersen PK, Melbye M: Effects of family history and place and season of birth on the risk of schizophrenia. *N Engl J Med* (1999); 340: 603- 608.
2. DeLisi L, Smith SB, Hamovit JR, Maxwell ME, Godin LR, Dingman CW, Gershon ES: Herpes simplex virus, cytomegalovirus and Epstein-Barr virus antibody titres in sera from schizophrenic patients. *Psychol Med* (1986); 16: 757- 763.
3. Torrey EF, Yolken RH: Familial and genetic mechanisms in schizophrenia. *Brain Res Brain Res Brain Res Rev* (2000); 31:113- 7.
4. Buka SL, Tsuang MT, Torrey EF, Klebanoff MA, Bernstein D, Yolken RH: Maternal infections and subsequent psychosis among offspring. *Arch Gen Psychiatry* 58 (2001): 1032- 107.
5. Lewis DA, Levin P: Schizophrenia as a disorder of neurodevelopment. *Ann Rev Neurosci* 25 (2002): 409- 43.
6. Torrey EF, Yolken RH: *Toxoplasma gondii* may contribute to the aetiology of schizophrenia. *Emerg Infect Dis*, in press (2000).
7. Sarciron ME, Gherardi A: Cytokin involved in toxoplasmic encephalitis. *Scand J Immunol* 52 (2000): 534-543.
8. Dubey JP, Beatie CP: *Toxoplasmosis of animal and man*. Boca Raton: CRP Press, (1988): 220.
9. Feldmann, HA: Epidemiology of *Toxoplasma gondii* infections. *Epidem. Rev.* 4 (1982): 204-213.
10. Frenkel, JK: *Toxoplasmosis*. *Pediatr. Clin. North. Am.* 32 (1985): 917-932.
11. Kayser FH, Bienz KA, Eckert J, Zinkernagel RM: „Medizinische Mikrobiologie“ Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1998), 9. Auflage.
12. Janitschke K: *Toxoplasmose*. In "Medizinische Mikrobiologie", Hahn H, Falke D, Klein P, (Hrsg.), Springer Verlag, Berlin, Heidelberg, New York (1991): 898-900.
13. Friese K, Hlobil H: *Pränatale Toxoplasmose - brauchen wir ein Screening in der Schwangerschaft?* (1997).
14. Stürchler D, Berger R, Just M: *Die konnatale Toxoplasmose in der Schweiz*. *Schweiz Med. Wochenschr.* 117 (1987): 161-167.
15. Braveny I, Disko R, Janssen H: *Untersuchungen zur Epidemiologie der Toxoplasmose*. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 98 (1973): 535-539.
16. Jacquier P, Hohlfeld P, Vorkauf, H, Zuber P: *Epidémiologie de la toxoplasmose en Suisse: étude nationale de séroprévalence menée chez les*

- femmes enceintes en 1990-1991. Schweiz. Med. Wochenschr. 125, Suppl. 65 (1995): 29S-38S.
17. Seitz HM: Mikrobiologie von *Toxoplasma*-Spezies. In: "Infektionen durch *Toxoplasma gondii*", Shah PM, Stille W. (Hrsg.), Socio-medico Verlag, Gräfelfing (1992), 2. Auflage: 7-18.
 18. Friese K: Toxoplasmose und Schwangerschaft. In: "Toxoplasmose - Erreger und Krankheit", Pohle HD, Remington JS (Hrsg.), Socio-medico Verlag, Gräfelfing (1995), 2. Auflage: 122-129.
 19. Ockert G: Epidemiologie der *Toxoplasma*-Infektion. In: "Toxoplasmose - Erreger und Krankheit", Pohle HD, Remington JS (Hrsg.), Socio-medico Verlag, Gräfelfing (1995), 2. Auflage: 30-42.
 20. Stray- Pedersen BA: Prospective study of acquired toxoplasmosis among 8043 pregnant women in the Oslo area. Am J. Obstet. Gynecol. 136 (1980): 399-406.
 21. Wildführ W: Der Erreger der Toxoplasmose - *Toxoplasma gondii* Nicolle und Manceaux 1908. In: "Toxoplasmose. Ratgeber für Ärzte und Tierärzte", Wildführ G, Wildführ W. (Hrsg.), VEB Gustav Fischer Verlag, Jena (1975), 1. Auflage: 15-45.
 22. Remington JS, McLeod R, Toxoplasmosis. In: "Infectious Diseases and Medical Microbiology", Braude AI, Davis CE, Fierer J, W. B. Saunders Company, Philadelphia, London, Toronto (1986), 2nd edition: 1521-1535.
 23. Schlenger, M. "Toxoplasmose in der Gynäkologie und Geburtshilfe", Med. Dissertation, Univ. München (1994).
 24. Thalhammer, O. Die Toxoplasmose bei Mensch und Tier. W. Maudrich, Wien, Bonn (1957).
 25. Brodt HR, Helm EB, Kamps BS: „AIDS 1997. Diagnostik und Therapie.“, Steinhäuser Verlag, Köln (1997), 7. Auflage.
 26. Pohle HD: Toxoplasmose bei Abwehrschwäche. In: "Infektionen durch *Toxoplasma gondii*", Shah, P. M.; Stille, W. (Hrsg.), Socio-medico Verlag, Gräfelfing (1992), 2. Auflage: 65-76.
 27. Potasman J, Resnick L, Luft BJ, Remington J: Intrathekal production of antibodies against *Toxoplasma gondii* in patients with toxoplasmic encephalitis and the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Ann Int Med (1988); 108: 49-51.
 28. Georgiev VS: Management of toxoplasmosis. Drugs 48 (1994) 179- 188.
 29. Fabricius EM: Klinische Erscheinungen der HIV- Infektion und des Vollbildes AIDS. In "Bücherei des Augenarztes", Gloor B, Naumann GOH, Rochels R (Hrsg.) Enke Verlag, Stuttgart (1992), Bd. 129: 30-48.
 30. Cochereau- Massin I, LeHoang P, Lautier-Frau M, Zerdoun E, Zazoun L, Robinet M, Marcel P, Girard B, Katlama C, Lepout C, Rozenbaum W, Coulaud

- JP, Gentilini M: Ocular toxoplasmosis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Am J. Ophthalmol.* 114 (1992): 130- 135.
31. Fabricius EM: Augenmanifestation und neuroophthalmologische Symptome bei HIV- Infektion. In "Bücherei des Augenarztes", Gloor B, Naumann GOH, Rochels R. (Hrsg.) Enke Verlag, Stuttgart (1992), Bd. 129: 49-202.
32. Montoya JG, Remington JS: Toxoplasmic chorioretinitis in the setting of acute acquired toxoplasmosis. *Clin. Inf. Dis.* 23 (1996): 277-282.
33. Heinemann MH, Gold JMW, Maisel J: Bilateral toxoplasma retinochoroiditis in a patient with acquired immune deficiency syndrome. *Retina* 6 (1986) 224.
34. Simon, C.; Wilkinson, P. "Diagnosis of infectious diseases - new aspects" Schattauer Verlag, Stuttgart, New York (1986).
35. Pinon JM, Toubas D, Marx C, Mougeot G, Bonnin A, Bonhomme A, Villaume M, Foudrinier F, Lapan H: Detection of specific immunoglobulin E in patients with toxoplasmosis. *J. Clin. Microbiol.* 28 (1990): 1739-1743.
36. Prömpeler HJ, Vogt A, Petersen EE: Toxoplasmose- Diagnostik in der Schwangerschaft. *Geburtsh. u. Frauenheilk.* 49 (1989): 642-648.
37. Thulliez P, Daffos F, Forestier F: Diagnosis of toxoplasma infection in the pregnant woman and the unborn child: current problems. *Scand. J. Infect. Dis., Suppl.* 84 (1992): 18-22.
38. Garcia LS, Sulzer AJ, Healy GR, Grady KK, Bruckner DA: Blood and Tissue protozoa; in Murray PR, Baron EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Tenover RH (eds): *Manual of Clinical Microbiology*. Washington, ASM Press (1995), pp 1171-1195.
39. Janitschke K: Senk U, Hoffmann HG, Dempe S: Aussagekraft von Befunden, erhoben durch Enzymimmunoassays auf Toxoplasma-IgG und IgM-Antikörper. *Z. Geburtsh. u. Perinat.* 193 (1989): 203-207.
40. Eng J (Hrsg.): "Radiologie compact" Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York (1999).
41. Suter BJ, Blatter S, Bittar M, Viollier EH: Toxoplasmose-IgG-Avidität: Welchen Stellenwert hat sie in der Schwangerschaft? *Schweiz. Med. Wochenschr.* 129 (1999): 1938-1941.
42. Hedman K, Lappalainen M, Seppäiä I, Mäkelä O: Recent primary Toxoplasma infection indicated by a low avidity of specific IgG. *J. Infect. Dis.* 159 (1989): 736-740.
43. Ruf B: Therapie und Prophylaxe der Toxoplasmose. In: "Toxoplasmose - Erreger und Krankheit", Pohle HD, Remington JS (Hrsg.), Socio-medico Verlag, Gräfelfing (1995), 2. Auflage: 195-234.
44. Rothova A, Meenken C, Buitenhuis HJ, Brinkman CJ, Baarsma GS, Boen-Tan TN, de Jong P, TVM, Klaassen-Broekema N, Schweitzer CMC, Timmerman Z,

- de Vries J, Zaal MJW, Kijlstra A: Therapy for ocular toxoplasmosis. *Am. J. Ophthalmol.* 115 (1993): 517-523.
45. Vaudaux B, Rudin Ch, Kind C, Schaad UB, Gnehm HE, Nadal D, Suter S, Calame A, Hohlfeld P: Toxoplasmose congénitale: prise en charge pédiatrique. *Schweiz. Med. Wochenschr.* 125, Suppl. 65 (1995): 70S-81S.
46. Couvreur J, Desmots G, Tourner G, Szustékac M: Etude d'une série homogène de 210 cas de toxoplasmose congénitale chez des nourrissons âgés de 0 à 11 mois et dépistés de façon prospective. *Ann. Pédiatr. (Paris)* 31 (1984): 815-819.
47. Remington JS, Desmots G: Toxoplasmosis. In "Infectious diseases of the fetus and newborn infant", Remington JS, Klein JO (eds.), W. B. Saunders Company, Philadelphia (1990), 3rd ed.: 89-195.
48. Friese K, Weigel M, Melchert F: Diagnostik und Therapie der konnatalen Toxoplasmose. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 118 (1993): 1814-1816.
49. Podzamczar D, Salazar A, Jiménez J, Consiglio E, Santín M, Casanova A, Rufí G, Gudiol F: Intermittent trimethoprim-sulfamethoxazole compared with dapsone-pyrimethamine for the simultaneous primary prophylaxis of *Pneumocystis pneumonia* and toxoplasmosis in patient with HIV. *Ann. Intern. Med.* 122 (1995): 755-761.
50. Opravil M, Hirschel B, Lazzarin A, Heald A, Pechère M, Rüttimann S, Iten A, von Overbeck J, Oertle D, Praz G, Vuitton DA, Mainini F, Lüthy R: Once-weekly administration of dapsone/ pyrimethamine vs. aerosolized pentamidine as combined prophylaxis for *Pneumocystis carinii pneumonia* and toxoplasmic encephalitis in human immunodeficiency virus-infected patients. *Clin. Infect. Dis.* 20 (1995): 531-541.
51. Girard PM, Landman R, Gaudebout C, Olivares R, Saimot AG, Jelazko P, Gaudebout Ch, Certain A, Boué F, Bouvet E, Lecompte T, Coulaud JP and the PRIO Study Group Dapsone-pyrimethamine compared with aerosolized pentamidine as primary prophylaxis against *Pneumocystis carinii pneumonia* and toxoplasmosis in HIV infection. *N. Engl. J. Med.* 328 (1993): 1514-1520.
52. Janeway CA and Travers P. Die Struktur des Antikörpermoleküls und der Immunglobulin- gene. In: *Immunologie*. Spektrum Akademischer Verlag, Heidelberg (1997): 115-122.
53. Sher A und Coffman RL: Regulation of immunity to parasites by T cell and T cell derived cytokines. *Annu. Rev. Immunol.* 10 (1992): 385- 409.
54. Chardes T und Bout D.: Mucosal immune response in toxoplasmosis. *Res. Immunol.* 144: 57-60.
55. Schreiber RD und Feldmann HA 1980: Identification of the activator system for antibody to *Toxoplasma* as the classical complement pathway. *J. Infect. Dis.* 141 (1980): 366- 369.

56. Anderson SE, Bautista S, Remington JS: Induction of resistance to *Toxoplasma gondii* in human macrophages by soluble lymphocyte products. *J. Immunol.* 117 (1976): 381- 387.
57. Stadtsbaeder S, Nguyen BT, Calvin- Preval MC: Respective role of antibodies and immune macrophages during acquired immunity against toxoplasmosis in mice. *Ann. Inst. Past./ Immunol.* 126 (1975): 461-474.
58. Krahenbuhl JL, Remington JS: The immunology of toxoplasma and toxoplasmosis. In: *Immunology of parasitic infections*. 2. edition. Coehen, S., Warren, K.S. (ed.), Blackwell Scientific Publications, Oxford. Pp (1982): 356- 421.
59. Murray HW, Rubin BY, Carriero SM, Harris A, Jaffee EA: Human mononuclear phagocyte antiprotozoal mechanism: Oxygen- dependent vs. oxygen- independent activity against intracellular *Toxoplasma gondii*. *J. Immunol.* 134 (1985): 1982- 1988.
60. Steinmann RM, Pack M, Inaba K: Dendritic cells in the T- cell areas of lymphoid organs. *Immunol.* (1997): 25-37.
61. Rescigno M, Granucci F, Ricciardi- Castagnoli R: Dendritic cells at the end of the millennium. *Immunol. Cell Biol.* 77 (1999): 404-410.
62. Subauste CS und Wessendarp M: Human dendritic cells discriminate between viable and killed *Toxoplasma gondii* Tachyzoites: Dendritic cell activation after infection with viable parasites results in CD28 and CD40 Ligand signalling that controls IL-12-dependent and –independent T cell production of IFN- γ . *J. Immunol.* 165 (2000): 1498-1505.
63. Subauste CS, de Waal Malefyt R, Fuh F: Role of CD80 (B7.1) and CD86 (B7.2) in the immune response to an intracellular pathogen. *J. Immunol.* 160 (1998): 1831-1840.
64. Subauste CS, Wessendarp M, Sorensen RU, Leiva L: CD40-CD40 ligand interaction is central to cell-mediated immunity against *Toxoplasma gondii*: patients with hyper IgM syndrome have a defective type- I immune response which can be restored by soluble CDL trimer. *J. Immunol.* 162 (1999): 6690-6700.
65. Paulnock DM: Macrophage Activation by T Cells. *Curr. Opin. Immunol.* 4 (1992): 344- 349.
66. Subauste CS, Koniaris AH, Remington JS: Murine CD8⁺ cytotoxic T lymphocytes lyse *Toxoplasma gondii*- infected cells. *J. Immunol.* 147 (1991): 3955-3959.
67. Bogensberger S, Boss N, Jäckle R, Nawrocki P, Parzhuber S, Striebeck C, Wangerin G: Roche Lexikon Medizin, 3. Auflage, Urban & Schwarzberg, München (1993).
68. Saß H, Wittchen HU, Zaudig M: Diagnostisches und Statistisches Manual Psychischer Störungen. DSM-IV. Göttingen: Hogrefe (1996).

69. Watzl, H. & Rist, F. Schizophrenie. In K.Hahlweg & A.Ehlers (Hrsg.), *Psychische Störungen und ihre Behandlungen* (Kapitel 1, S. 1-154). Göttingen: Hogrefe (1997).
70. ICD-10-WHO (2006):
<http://www.dimdi.de/static/de/klassi/diagnosen/icd10/htmlamtl2006/fricd.htm>
71. Kraepelin E. Psychiatrie. Barth:Leipzig (1913).
72. Kraepelin E.: *Dementia praecox*. New York: Churchill Livingstone Inc. (1919).
73. Längle G, Mayenberger M: Die Rolle der Klinik im Verlauf schizophrener Erkrankungen. *Gesundheitswesen* 62 (2000): 9-14.
74. Bleuler E: *Handbuch der Psychiatrie – Dementia praecox oder Gruppe der Schizophrenien*, Franz Deuticke, Leipzig 1911.
75. Sielk M, Janssen B: Hausärztlich relevante Aspekte bei der Diagnostik und Therapie der Schizophrenie. *Z Allgemeinmed* 80 (2004): 470-482.
76. Gaebel W, Falkai P: Schizophrenie, Schizotypie und wahnhaftige Störungen; in: *Psychiatrie und Psychotherapie*. Zweite, vollständig neu bearbeitete Auflage; hrsg. v. Gastpar MT, Kasper S, Linden M; Springer, Wien (2003): 97-117.
77. Wobrock T, Pajonk FG, Falkai P: Schizophrenie: Teil I Epidemiologie, Ätiopathogenese, Symptomatologie. *Fortschr Neurol Psychiatr* 72 (2004): 98-113.
78. Schultz SK, Andreasen NC: Schizophrenia. *Lancet* 353(9162) (1999): 1425-1430.
79. Falkai P; Maier W: Fortschritte in der neurobiologischen Erforschung in der Schizophrenie. *Perspektiven für neue Therapieansätze*. *Nervenarzt* 77 Suppl 3 (2006): S65-S76.
80. Möller HJ, Laux G, Deister A: *Psychiatrie und Psychotherapie*, 3. überarbeitete Auflage, Thieme, Stuttgart 2005.
81. Heinz A: Neue Befunde für eine alte Theorie. *Nervenarzt* 71 (2000): 54-57.
82. Hautzinger, M. Depression. In J. Margraf (Hrsg.), *Lehrbuch der Verhaltenstherapie*. Band 2. S.121-133. Berlin: Springer(1996).
83. Andrade LJJ, Caraveo-Anduaga P, Berglund RV, Bijl R, De Graaf W, Vollebergh E, Dragomirecka R, Kohn M, Keller RC, Kessler N, Kawakami C, Kilic D, Offord TB, Ustun and HU Wittchen. The epidemiology of major depressive episodes: results from the International Consortium of Psychiatric Epidemiology (ICPE) Surveys. *Int J Methods Psychiatr Res* 12 (2003): 3-21.
84. Heun, R. and W. Maier. The distinction of bipolar II disorder from bipolar I and recurrent unipolar depression: results of a controlled family study. *Acta Psychiatr Scand* 87 (1993): 279-84.

85. Weissman MM, Leaf GL, Tischler DG, Blazer M, Karno ML, Bruce and L. P. Florio. Affective disorders in five United States communities. *Psychol Med* 18 (1988): 141-53.
86. Marneros A: Schizoaffektive Erkrankungen. Ein Leitfaden für Klinik und Praxis. Stuttgart: Thieme (1995).
87. Davison GC and JM Neale. *Klinische Psychologie*. (4. überarb. Aufl.). Weinheim: PVU (1996).
88. Bracke, P. Sex differences in the course of depression: evidence from a longitudinal study of a representative sample of the Belgian population. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 33 (1998): 420-9.
89. Ahrens B, Berghofer A, Wolf T and Muller-Oerlinghausen B. Suicide attempts, age and duration of illness in recurrent affective disorders. *J Affect Disord* 36 (1995): 43-9.
90. Angst JF, Angst and H. H. Stassen. Suicide risk in patients with major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 60(Suppl 2) (1999): 57-62; discussion 75-6, 113-6.
91. Lester D. Suicidal behavior in bipolar and unipolar affective disorders: a meta-analysis. *J Affect Disord* 27 (1993): 117-21.
92. Malone KM, Haas GL, Sweeney JA and Mann JJ. Major depression and the risk of attempted suicide. *J Affect Disord* 34 (1995): 173-85.
93. Skogman KM, Alsen and A. Ojehagen. Sex differences in risk factors for suicide after attempted suicide- a follow-up study of 1052 suicide attempters. *Soc Psychiatry Psychiatr Epidemiol* 39 (2004): 113-20.
94. Sokero TP, Melartin TK, Rytsala HJ, Leskela US, Lestela-Mielonen PS and Isometsa ET. Suicidal ideation and attempts among psychiatric patients with major depressive disorder. *J Clin Psychiatry* 64 (2003): 1094-100.
95. Walinder J and Rutz W. Male depression and suicide. *Int Clin Psychopharmacol* 16 Suppl 2 (2001): S21-24.
96. Algermissen CK, Beichert, Ebel H. *Depression. Epidemiologie und Pathogenese*. Hausarzt Kolleg. Neurologie Psychiatrie. 1 (2003): 7-9.
97. Sullivan PF, MC Neale and KS Kendler. Genetic epidemiology of major depression: review and meta-analysis. *Am J Psychiatry* 157 (2000): 1552-62.
98. Schildkraut JJ. The catecholamine hypothesis of affective disorders: a review of supporting evidence. *Am J Psychiatry* 122 (1965): 509-22.
99. Stahl SM. *Basic psychopharmacology of antidepressants, part 1: antidepressants have seven distinct mechanism of action*. *J Clin Psychiatry* 59 (1998): 5-14.
100. Nutt DJ. The neuropharmacology of serotonin and noradrenaline in depression. *Int Clin Psychopharmacol* 17 Suppl 1 (2002): S1-12.

101. Aldenhoff JB. Überlegungen zur Psychobiologie der Depression. *Der Nervenarzt* 68 (1997), 379-389.
102. Laux G und Kapfhammer HP: *Psychiatrie und Psychotherapie*. S. 1104-1148. Berlin: Springer (2002).
103. Baumgartner A. Schilddrüsenhormone und depressive Erkrankung – kritische Übersicht und Perspektiven. Teil 1. *Nervenarzt* 64 (1993): 1-10.
104. Baumgartner A und Campos-Barros A. Schilddrüsenhormone und depressive Erkrankungen – Kritische Übersicht und Perspektiven. Teil 2. *Nervenarzt* 64 (1993): 11-20.
105. Hendrick V, Altshuler L and Whybrow P. Psychoneuroendocrinology of mood disorders. The hypothalamic- pituitary- thyroid axis. *Psychiatr Clin North Am* 21 (1998): 277-92.
106. Holsboer F. Neuroendocrinology of mood disorders. *Psychopharmacology* 83 (1995): 957-969.
107. Nemeroff CB. The corticotropin-releasing factor (CRF) hypothesis of depression: new findings and new directions. *Mol Psychiatry* 1 (1996): 336-42.
108. Steckler T, Holsboer F, Reul JM. Glucocorticoids and depression. *Baillieres Best Pract Res Clin Endocrinol Metab* 13(1999): 597-614.
109. Manji HK, Drevets WC, Charney DS. The cellular neurobiology of depression. *Nat Med* 7 (2001): 541-7.
110. Marneros A, Deister A und Rohde A: *Affektive, Schizoaffektive und Schizophrene Psychosen*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer (1991).
111. Saß H, Wittchen HU, Zaudig M und Houben I (Deutsche Bearbeitung). *Diagnostische Kriterien des Diagnostischen und Statistischen Manuals Psychischer Störungen DSM-IV*. Göttingen, Bern, Toronto: Hogrefe. (1998).
112. Sauer H, Richter P und Saß H.. Zur prämorbidem Persönlichkeit von Patienten mit schizoaffektiver Psychose. In Marneros A (ed.): *Schizoaffektive Psychosen. Diagnose, Therapie und Prophylaxe*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. (1989).
113. Müller-Oehrlinghausen B, Thies K und Volk J. Lithium in der Prophylaxe schizoaffektiver Psychosen. In: Marneros A (ed.): *Schizoaffektive Psychosen. Diagnose, Therapie und Prophylaxe*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. (1989).
114. Möller HJ und Morin C. Behandlung schizodepressiver Syndrome mit Antidepressiva. In: Marneros A (ed.): *Schizoaffektive Psychosen. Diagnose, Therapie und Prophylaxe*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. (1989).
115. Bandelow B. & Rüter E: Neuroleptika in der Behandlung schizoaffektiver Psychosen. In: Marneros, A. (Hrsg.): *Schizoaffektive Psychosen. Diagnose, Therapie und Prophylaxe*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer. (1989).

116. Hanson DR, Gottesman II. Theories of schizophrenia: a genetic-inflammatory-vascular synthesis (2005): 6-7.
117. Rothermundt M, Arolt V, Bayer TA. Review of immunological and immunopathological findings in schizophrenia (2001): 19-39.
118. Schwarz MJ, Chiang S, Muller N, Ackenheil M. T-helper-1 and T-helper-2 responses in psychiatric disorders (2001): 40-70.
119. Kim YK, Myint AM, Lee BH et al. Th1, Th2 and Th3 cytokine alteration in schizophrenia (2004): 69-82.
120. Gu H, Yolken RH, Phillips M, Yang F, Bilder RM, Gilmore JH, Lieberman JA. Evidence of *Toxoplasma gondii* infection in recent onset schizophrenia (abstract). Schizophr Res (2001); 49; 53.
121. Bachmann S, Schröder J, Bottmer C, Torrey EF, Yolken RH: Psychopathology in First Episode Schizophrenia and Antibodies to *Toxoplasma gondii*. (2005).
122. Yolken RH, Bachmann S, Roushana I, Lillehoj E, Ford G, Torrey EF, Schröder J: Antibodies to *Toxoplasma gondii* in individuals with first-episode schizophrenia. Clin Infect Dis (2001): 842-844.
123. Nathan CF, Murray HW, Wiebe ME, Rubin BY: Identification of Interferon- γ as the lymphokine that activates human macrophage oxidative metabolism and antimicrobial activity. J. Exp. Med. 158 (1983): 670-689.
124. Winsser J, Verlinde JD, van Thiel PH, Davel J, van der Elst P: Isolation of *Toxoplasma* from cerebrospinal fluid of a living infant in Holland. Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 67 (1948): 801-807.
125. Möller HJ, Laux G, Deister A. Psychiatrie und Psychotherapie. Stuttgart: Thieme-Verlag. (2001).
126. Bremner JD, Vythilingam M, Vermetten E, Nazeer A, Oren DA, Berman RM, Charney DS. Regional Brain Metabolic Correlates of α -Methylparatyrosine-Induced Depressive Symptoms: Implications for the Neural Circuitry of Depression. JAMA 289 (2003): 3125-3134.
127. Delgado Garcia G: Toxoplasmosis y enfermedades mentales. Rev Cubana Med Trop (1979); 31: 127-131.
128. Kocher R, Kaeser HE, Wurmser P: Zur Erwachsenentoxoplasmose des ZNS. Praxis (1969): 427-437.
129. Minto A, Roberts F: The psychiatric complications of toxoplasmosis. Lancet (1959): 1180-1182.
130. Qiuying L, Xiaonian L, Li L: The control study of schizophrenia and affective disorder and *Toxoplasma* infections. Acta Acad Med Hubei (1999): 223-225.

131. Pfefferkorn ER: Interferon- γ blocks the growth of *Toxoplasma gondii* in human fibroblasts by inducing the host cells to degrade tryptophan. Proc. Natl. Acad. Sci USA 81 (1984): 908- 912.
132. Stibbs H: Changes in brain concentration of catecholamines and indoleamines in *Toxoplasma gondii*- infected mice. Ann Trop Med Parasitol 79 (1985): 153- 157.
133. Hinze- Selch D, Däubener W, Eggert L, Erdag S, Stoltenberg R, Wilms S: *Toxoplasma gondii* infection in psychiatric patients: A large scale controlled prospective study in individuals with major depression or schizophrenia. The Archives of General Psychiatry (2006).
134. Leweke, F.M., Gerth, W.C., Koethe, D., Klosterkötter, J., Ruslanova, I., Krivogorsky, B., Torrey, E.F., Yolken, R.H.: Antibodies to infectious agents in individuals with recent onset schizophrenia. (2004).
135. Roos T, Martius J, Gross U, Schrod L: Systematic serologic screening for toxoplasmosis in pregnancy. Obstet Gynecol 81 (1993):243- 250.
136. Manson-Bahr PEC: Communicable Disease Report. Vol 2, Number 10, March (1992): 43-46.
137. Groß U, Bohne W: *Toxoplasma gondii*: strain- and host cell-dependent induction of stage differentiation. J Eukaryot Microbiol (1994) Sep-Oct;41: 10-11.
138. Baril L, Ancelle T, Goulet V, Thulliez P, Tirard- Fleury V, Carme B. Risk factors for *Toxoplasma* infection in pregnancy: a case- control study in France. Scand J Infect Dis 31 (1999): 305- 9.
139. Torrey EF, Rawlings R, Yolken RH: The antecedents of psychoses: A case- control study of selected risk factors. Schizophr Res (2000): 46: 17- 23.
140. Denkers EY. T- lymphocyte- dependent effector mechanisms of immunity to *Toxoplasma gondii*. Microbes and Infection 1 (1999): 699- 708.
141. Gazzinelli RT, Wysocka M, Hieny S, Schariton- Kersten T, Cheever A, Kuhn R, Muller W, Trinchieri G and Sheer A. In the absence of endogenous IL- 10, mice acutely infected with *Toxoplasma gondii* succumb to a lethal immune response dependent on CD4⁺ T-cells and accompanied by overproduction of IL- 12, IFN- γ and TNF- alpha. Journal of Immunology 157 (1996): 798- 805.
142. Yap GS, Sher A. Cell- mediated immunity to *Toxoplasma gondii*:: Initiation, regulation and effector function. Immunobiology 201 (1999): 240- 247.
143. Hinze- Selch, Pollmacher T: In vitro cytokine secretion in individuals with schizophrenia: results, confounding factors, and implications for further research. Brain Behav Immun 15 (2001): 282- 318.

144. Moises HW, Ruger R, Reynolds GP, Fleckenstein B: Human cytomegalovirus DNA in the temporal cortex of a schizophrenic patient. *Eur Arch Psychiatry Neurol Sci* 238 (1988):110- 113.
145. Potasman I, Araujo FG, Remington JS: *Toxoplasma* antigens recognized by naturally occurring human antibodies. *J Clin Microbiol* (1986):1050-4.
146. Konishi E. Naturally occurring immunoglobulin M antibodies to *Toxoplasma gondii* in Japanese populations. *Parasitology* (1991):157-62.
147. Tamer GS, Dundar D, Yalug I, Caliskan S, Yazar S, Aker A: The schizophrenia and *Toxoplasma gondii* connection: infectious, immune or both? (2008).

7 Abkürzungsverzeichnis

Abb.	Abbildung
AK	Antikörper
BSA	Bovine serum albumin
CD	Cluster of Differentiation
cpm	Counts per minute
d	Tage
DMSO	Dimethylsulfoxid
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
ELISA	Enzyme- Linked Immuno Sorbent Assay
FACS	Fluoreszenz aktivierter Zell- Scanner
FCS	Fetales Kälber Serum
h	Stunde(n)
³H	Tritium
IFT	Immunfluoreszenztest
IDO	Indolamin 2,3- Dioxygenase
IFN	Interferon
Ig	Immunglobulin
IL	Interleukin
IMDM	Iscoves Modified Dulbecco ´ s Medium
LSC	Liquid scintillation counter
LZL	Lysat von Mausfibroblasten der Linie 929
MHC	Major Histocompatibility Complex
OD	Optische Dichte
PBS	Phosphat buffered Saline
PHA	Phytohämagglutinin
RT	Raumtemperatur
SD	Standardabweichung
SEB	Staphylokokken- Enterotoxin B
T	Thymin
T. g.	Toxoplasma gondii
Tab.	Tabelle
TLA	Toxoplasmen Lysat
TMB	3,3´ , 5,5´ Tetramethylbenzidin
U	Units

8 Danksagung

Mein besonderer Dank gilt Herrn Prof. Dr. med. Walter Däubener für die Überlassung des Dissertationsthemas und für die allzeit hervorragende und tatkräftige Betreuung.

Mein herzlicher Dank gilt Frau Tanja Vogel für die Einarbeitung im Labor sowie ihre stete Hilfsbereitschaft und Unterstützung im Laboralltag.

Allen Mitgliedern der Arbeitsgruppe Däubener danke ich für die äußerst kollegiale und angenehme Arbeitsatmosphäre, an die ich mich gerne zurück erinnere und in der es eine Freude war zu arbeiten.

Abschließend bedanke ich mich bei Herrn PD Dr. rer. nat. Sorg für die Übernahme des Koreferats.

9 Curriculum vitae

Persönliche Daten

Name: Bessime Bozkurt
 Anschrift: Holzstr. 1
 45141 Essen
 E- mail: bessi_bozkurt@gmx.de
 Geburtsdatum: 01.11.1976
 Geburtsort: Duisburg
 Nationalität: deutsch
 Familienstand: ledig

Schulbildung

1983- 1987 Grundschule Heisterbacherstraße, Duisburg
 1987- 1996 Max- Planck- Gymnasium, Duisburg
 Juni 1996 Abitur

Hochschulbildung

1996- 1998 Anglistik und Romanistikstudium, Duisburg
 1998- 2005 Medizinstudium, HHU Düsseldorf
 03/ 2001 Physikum
 03/ 2002 Erstes Staatsexamen
 03/ 2004 Zweites Staatsexamen
 05/ 2005 Drittes Staatsexamen und Approbation als Ärztin

Berufliche Laufbahn

07/ 2006- 03/ 2008 Klinik für Neurologie, PD Dr. Busch,
 Marien- Hospital Kevelaer
 04/ 2008- 09/ 2008 Klinik für Kardiologie, Prof. Dr. Erbel,
 Universitätsklinikum Essen
 Seit 10/ 2008 Klinik für Neurologie, Prof. Dr. Diener
 Universitätsklinikum Essen